**Anti-Lua, Anti-Lub, Anti-Xga, Anti-Kpa,**

**Anti-Kpb, Anti-Wra, Anti-Coa, Anti-Cob,**

**Anti-Dia, Anti-Jsb**

**Coombs-reactive (polyclonal, human)**

For indirect Coombs-test

FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE ONLY

**INTRODUCTION**

Polyclonal Coombs-reactive **Anti-Lua, Anti-Lub, Anti-Xga, Anti-Kpa, Anti-Kpb, Anti-Wra, Anti-Coa,**

**Anti-Cob, Anti-Dia, Anti-Jsb** -testsera are produced from human plasma that containing a specific

antibody of IgG-type, which reacts exclusively with the corresponding antigen. The testsera are

used to determine whether red blood cells possess or lack the corresponding blood group antigens

**Lua, Lub, Xga, Kpa, Kpb, Wra, Coa, Cob Dia** and **Jsb**. The testsera are intended be used by qualified

and technical personnel only.

**PRINCIPLE OF PROCEDURE**

The procedures used with these reagents are based on the principle of agglutination. Normal

human erythrocytes, possessing one of these antigens, will be recognized and coated by the

corresponding specific antibody and than the cells will be agglutinated by a secondary antibody, that

reacts with human IgG-molecules.

**REAGENTS**

The listed reagents are available in a formulation, with differences in specificity for the antibody only:

**Anti-Lua, Anti-Lub, Anti-Xga, Anti-Kpa, Anti-Kpb, Anti-Wra, Anti-Coa, Anti-Cob, Anti-Dia, Anti-Jsb**

Coombs-reactive (polyclonal, human)

All reagents contain <0.1% (w/v) sodium azide as preservative. Beside the parts active antibody

and human serum the reagents contain sodium chloride, macromolecules and bovine albumin.

**WARNING**

These reagents were prepared from human plasma. The raw material for this product is tested for

HBsAg, HIV- and HCV antibodies and found to be negative. Nevertheless as biological products it

should be looked upon as potentially infectious because of never complete exclusion of danger

through excitants of disease. The reagents contain sodium azide, that may be toxic and may react

with lead or copper to form highly explosive salts. Because of these reasons reagents should be

handled with proper care.

**STORAGE REQUIREMENT**

Store at 2 to 8°C. May be at room temperature (15 to 30°C) while in use. Store and use the

reagents only to declared expiry date in principle. At keeping of storage conditions after bottle opening keep performance data to a validity expiration date.

**REMARKS**

1. Strength of positive reactions also depends on age of used blood.

2. With each testing positive and negative controls should be executed.

3. Weak turbidity of the reagent does not affect its reactivity.

4. Inappropriate storage impairs efficacy of the reagent.

5. Centrifugation highly different from appointed relative centrifugal force will lead to faulty results.

6. Blood samples to be tested should be used as soon as possible. If a delay in testing occurs,

samples should be stored at 2 to 8°C. Blood drawn into sodium citrate or EDTA should be tested

within 14 days.

7. The procedures identified below are for manual testing only. When using automated instruments,

follow the procedures that are contained in the operator’s manual provided by the device

manufacturer. Laboratories must follow approved validation procedures to demonstrate

compatibility of this product on automated systems.

8. For usage of this testsera all effective national laws, directives and guidelines have to be

observed, in Germany especially the „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen

und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“.

**REAGENT PREPARATION**

There is no preparation of the reagents required. Use reagent directly from the vials.

**PROCEDURE**

Not provided material additionally needed

**at Tube Centrifugation Method**

1. Test tubes, 10 x 75 mm or 12 x 75 mm

2. Pipettes designed to deliver approximately 100 μL

3. Centrifuge

4. Isotonic saline; 0,85 - 0,9% sodium chloride

5. Anti-Human-Globulin-serum (Coombs-serum)

**Test procedure**

**Tube Centrifugation Method**

1. Use a 2% to 5% suspension of red blood cells in isotonic saline (cells washed one time or up to

three times with isotonic saline) only.

2. Add 100 μL (alternative: one drop = approximately 50 μL) of appropriate reagent to each tube

3. Add 100 μL (alternative: one drop = approximately 50 μL) of appropriate cell suspension to each

tube

4. Mix well by slightly shaking.

5. Incubate tube at 37 °C for 30 min.

6. Wash red cells 3 times with (cold) isotonic saline.

7. Add 100 μL Anti-Human-Globulin-serum (Coombs-serum) to each tube

8. Centrifugation of tube for 1 min at 1.000 rpm (approximately 180-270 x g).

9. Gently resuspend the red cells and check macroscopically for agglutination within 3 Minutes.

Document the result.

**INTERPRETATION OF RESULTS**

" Slightly shaking " at Tube Centrifugation Method

Positive results (+): visible agglutination of erythrocytes is a positive result and indicates the

presence of the corresponding antigen.

Negative results (-): No visible agglutination of erythrocytes is a negative result and indicates the

absence of the corresponding antigen.

**LIMITATIONS OF THE PROCEDURE**

1. Inaccuracy at compliance with instructions written under section “Procedures” and “Interpretation

of results” may produce incorrect results.

2. Enzyme treated erythrocytes may react unspecific.

3. Due to variability of antigen expression, reactivity of these reagents against certain phenotypes

may give weaker reactivity compared to control cells.

4. Red blood cells coated with alloantibodies or autoantibodies of the same or similar specificity as

the reagent (i.e., cells that are positive in the direct antiglobulin-test (DAT)) are not suitable for this

test procedure.

5. The described procedures for testing are for usage with Coombs-serum produced by Antitoxin

GmbH. On principle Coombs-sera of other manufacturers can be used, but laboratories have to

follow the procedures of this manufacturer. Also laboratories must follow approved validation

procedures to demonstrate compatibility of this product.



## Анти-Lua, Анти-Lub, Анти-Xga, Анти-Kpa, Анти-Kpb, Анти-Wra, Анти-Coa, Анти-Cob, Анти-Dia, Анти-Jsb

## Кумбс-реактив (поликлональный, человеческий)

Для непрямого теста Кумбса:

Только для диагностика in vitro

**НАЗНАЧЕНИЕ**

## Поликлональная агглютинирующая тест-сыворотка Анти-Lua, Анти -Lub, Анти -Xga, Анти -Kpa, Анти -Kpb, Анти -Wra, Анти -Coa, Анти -Cob, Анти -Dia, Анти -Jsb Кумбс-реактив изготовлена из человеческой плазмы и содержит специфичные антитела класса IgG, которые избирательно взаимодействуют с соответствующими антигенами Lua, Lub, Xga, Kpa, Kpb, Wra, Coa, Cob Dia и Jsb. Тест-сыворотка определяет наличие или отсутствие соответствующих антигенов. Тест-сыворотка может использоваться только квалифицированным персоналом.

**ПРИНЦИП ИССЛЕДОВАНИЯ**

Исследование с использованием данных реагентов основано на принципе агглютинации. Нормальные человеческие эритроциты, покрытые соответствующими антигенами, распознаются и покрываются с соответствующими специфическими антителами, затем агглютинируют за счет других антител, которые взаимодействуют с молекулами человеческого IgG.

**РЕАГЕНТЫ**

Перечисленные реагенты доступны в составе с различиями только в специфике для антител **Анти -Lua, Анти -Lub, Анти -Xga, Анти -Kpa, Анти -Kpb, Анти -Wra, Анти -Coa, Анти -Cob, Анти -Dia, Анти -Jsb**

Кумбс-реактив (поликлональный, человеческий). Все реагенты содержат <0,1 % азида натрия в качестве консерванта. Также реагенты содержат активные антитела, хлорид натрия, макромолекулы и альбумин бычьей крови.

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ**

Данные реагенты изготовлены из человеческой плазмы. Биологические материалы, используемые для данного продукта, обследованы на наличие антител к HBsAg, HIV- and HCV (отрицательная реакция). Тем не менее, данный биологический продукт следует рассматривать в качестве потенциально инфицированного, не исключайте опасности заражения вследствие наличия возбудителей заболевания. Реагенты содержат азид натрия, который может быть токсичным и реагировать со свинцом или медью, образуя взрывоопасные соединения. Вследствие этого реагенты должны использоваться с большой осторожностью.

**УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ**

Хранить при температуре 2 – 8°С. В процессе использования могут находиться при комнатной температуре (15 – 30°С). Храните и используйте реагенты до указанной даты истечения срока годности. При соблюдении условий хранения после вскрытия флакона сохраняют рабочие характеристики до даты истечения срока годности.

**ПРИМЕЧАНИЯ**

1. Сила положительной реакции зависит от возраста используемой крови
2. В каждом исследовании должен выполняться контроль. Все результаты должны совпадать.
3. Слабое помутнение реагента не влияет на его активность.
4. Ненадлежащее хранение способствует снижению активности реагента.
5. Сила центрифугирования, отличная от указанной, может привести к неправильным результатам.
6. Образцы крови по возможности должны быть исследованы как можно быстрее. Если исследования задерживаются, образцы должны храниться при температуре 2 – 8°С. Кровь с цитратом натрия или ЭДТА должна исследоваться в течение 14 дней.
7. Исследования, описанные ниже, подходят только для ручного метода. При использовании автоматического и полуавтоматического оборудования следуйте предоставленному производителем Руководству по использованию инструмента. Сотрудники лабораторий должны следовать установленным системам оценки исследований, чтобы удостовериться в идентичности результатов, полученных ручным и автоматическим методом.
8. Перед использованием данной тест-сыворотки нужно ознакомиться с соответствующими национальными законами: приказами, директивами, инструкциями. (В оригинальных инструкциях дана ссылка на соответствующие немецкие законодательные акты).

**ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАГЕНТА**

Реагенты готовы к применению. Используйте реагенты прямо из флаконов.

**ИССЛЕДОВАНИЕ**

Реагент не обеспечен материалом, дополнительно требуются:

**Для метода центрифугирования в пробирке:** Пробирки 10 х 75 или 12 х 75 мм, пипетки с возможностью дозирования 100 мкл, центрифуга, изотонический раствор (0,85 – 0,9 % натрия хлорида), Кумбс-реактив.

**Алгоритм исследования**

**Метод центрифугирования в пробирке**

1. Используйте 2 % или 5 % суспензию эритроцитов в изотоническом растворе (эритроциты, однократно или многократно промытые изотоническим раствором).
2. Добавьте 100 мкл (одна капля = примерно 50 мкл) соответствующего реагента в каждую пробирку.
3. Добавьте 100 мкл (одна капля = примерно 50 мкл) соответствующей суспензии эритроцитов в каждую пробирку.
4. Хорошо перемешайте путем легкого встряхивания.
5. Инкубируйте пробирку при 37°С в течение 30 мин.
6. Трижды промойте эритроциты в (холодном) изотоническом растворе.
7. Добавьте 100 мкл реактива Кумбса в каждую пробирку.
8. Центрифугируйте пробирки 1 мин при 1000 об./мин (примерно 180 – 270 г).
9. Осторожно ресуспензируйте эритроциты и наблюдайте агглютинацию в пределах 3 мин. Запишите результат.

**ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ**

Легкое вращение/встряхивание в **методе центрифугирования в пробирке:**

Положительный результат (+): видимая алллютинация эритроцитов является положительным результатом и показывает наличие соответствующего антигена.

Отрицательный результат (-): отсутствие видимой алллютинации эритроцитов является отрицательным результатом и показывает отсутствие соответствующего антигена.

**ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА**

1. Неточное выполнение разделов «Исследование» и «Интерпретация результатов» может привести к неправильным результатам.
2. Обработанные ферментом эритроциты могут давать неспецифическую реакцию.
3. Из-за разной экспрессии эритроцитов действенность этих реагентов против определенных фенотипов может дать более слабую реакцию по сравнению с контрольными клетками.
4. Эритроциты, покрытые алло- или аутоантителами такой-же как реагент или подобной специфичности (т.е. клетки, дающие положительную реакцию в прямом антиглобулиновом тесте) могут дать ослабленную реакцию. В исключительных случаях могут наблюдаться ложноположительные реакции.
5. В инструкции описан метод с использованием реактива Кумбса производства ANTITOXINE GmbH. В принципе можно использовать реактив Кумбса других производителей, тогда лаборатории должны следовать инструкциям данных производителей.

ANTITOXIN GmbH

Industriestrasse 88

 69245 Bammental

 Deutschland

730-13-1408 Version 008 / Jul 2007