**Anti-M (Anti-MNS1) (Monoclonal, mouse)**

**Anti-N (Anti-MNS2) (Monoclonal, mouse)**

For Slide and Tube Test

FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE ONLY

**INTENDED USE**

Monoclonal agglutinating Anti-M and Anti-N –testsera are produced from cell culture supernatants

of hybridoma-cell lines. The cells are secreting an antibody, that reacts specific with the

corresponding antigen. The testsera are used to determine whether red blood cells possess or lack

the corresponding blood group antigens. 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 the corresponding antigen, will agglutinate in the presence

of the specific antibody directed toward the antigen.

**REAGENTS**

The listed reagents are produced by following clones:

Anti-M agglutinating (monoclonal, mouse, clones 11H2; M1-2F11)

Anti-N agglutinating (monoclonal, mouse, clones 20H12; MN879)

All these reagents contain <0.1% (w/v) sodium azide as preservative. Additionally the reagents are

prepared of active antibody, sodium chloride, macromolecules and bovine albumin.

**WARNING**

These reagents were prepared from supernatants of cell cultures. 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. In principle, store and use

the reagents to declared expiry date only. 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 performed.

3. Inappropriate storage impairs efficacy of the reagent.

4. Centrifugation highly different from appointed relative centrifugal force may lead to false results

5. 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. Blood obtained by finger puncture may be tested directly by the slide method but,

to avoid clotting, blood collected in this manner should be mixed quickly with the reagent.

6. The procedures identified below are for manual testing only. When using automated or semiautomated

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.

7. 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 reagents directly from the vials.

**PROCEDURE**

Not provided material, additionally needed

**at Slide Method**

1. Glass slide

2. Pasteur pipette

3. Mixing stick

**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 (with 0,85 - 0,9% sodium chloride)

**Test procedure**

**Slide Method**

1. Use erythrocyte sediment or whole blood only.

2. Place one drop (approximately 50 μL) of appropriate reagent on a glass slide.

3. Using a Pasteur pipette add one drop erythrocyte sediment or whole blood (approximately

50 μL) to the glass slide.

4. Mix the erythrocytes with reagent well with a stick and spread to a circle (diameter 2 cm)

5. By slightly rotating the slide, check for agglutination within 1 minute (reaction starts within

seconds). Unspecific reactions might appear due to drying of the reaction-formation or if the slide

is heated.

**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 room temperature (15 to 30 °C) for 15 min.

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

7. Gently resuspend the red cells and check macroscopically for agglutination within 3 minutes.

Document the result.

**INTERPRETATION OF RESULTS**

" Slightly rotating / shaking " at Slide Method and 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 lead to incorrect results.

2. No valid conclusion concerning the test result can be reached, if controls with uncertain or false

results occur.

3. Enzyme treated erythrocytes may react unspecific.

4. Addition of bovine albumin or protein containing solutions may lead to unspecific reactions.

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

may give weaker reactivity compared to control cells.

6. 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)) may give weak

reactions. In extreme cases, false-negative results may occur.

**Анти-M (Anti-MNS1) (Моноклональный, мышиный)**

**Анти-N (Anti-MNS2) (Моноклональный, мышиный)**

Для работы: на плоскости и в пробирке

Только для диагностики in vitro

**НАЗНАЧЕНИЕ**

Моноклональная агглютинирующая тест-сыворотка Анти-M и Анти-N изготовлена из надосадочных жидкостей клеточных линий гетерогибридомы. Клетки продуцируют антитело, которое специфично взаимодействует с соответствующим антигеном. 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, обладающие соответствующим антигеном, агглютинируют в присутствии специфического антитела, направленного против антигена.

**РЕАГЕНТЫ**

Перечисленные реагенты содержат антитела следующих клеточных клонов:

Агглютинирующий Анти-M (моноклональный, мышиный, клон 11H2; M1-2F11)

Агглютинирующий Анти-N (моноклональный, мышиный, клон 20H12; MN879)

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 надосадочных жидкостей клеточных культур. Данный биологический продукт следует рассматривать в качестве потенциально инфицированного, не исключайте опасности заражения вследствие наличия возбудителей заболевания. Реагент содержит азид натрия, который может быть токсичным и реагировать со свинцом или медью, образуя взрывоопасные соединения. Вследствие этого эти 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 положительный и отрицательный контроль.
3. Ненадлежащее хранение способствует снижению активности реагента.
4. Сила центрифугирования, отличная от указанной, может привести к неправильным результатам.
5. 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. Взятая из пальца кровь может быть исследована на плоскости, но, во избежание образования сгустков, такая кровь должна быть как можно быстрее смешана с реагентом.
6. 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.
7. 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 на плоскости:** Планшет, пипетка Пастера, Палочки для смешивания.

**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).

**Алгоритм исследования**

**Метод на плоскости**

1. Используйте осадок эритроцитов или цельную кровь.
2. Поместите одну каплю (приблизительно 50 мкл) соответствующего реагента на предметное стекло.
3. Используя пипетку Пастера, добавьте одну каплю осадка эритроцитов или цельной крови (приблизительно 50 мкл) на плоскость.
4. Тщательно смешайте эритроциты с реагентом и сформируйте круг (диаметром 2 см).
5. Осторожно вращая предметное стекло, проверьте агглютинацию в пределах 1 минуты (реакция начнется в течение нескольких секунд). Неспецифические реакции могут возникнуть при высыхании реактивной формации или нагревания.

**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 комнатной температуре (15 – 30°С) в течение 15 мин.
6. Центрифугируйте пробирки 1 мин при 1000 об./мин (примерно 180 – 270 г).
7. Осторожно ресуспензируйте эритроциты и наблюдайте агглютинацию в пределах 3 мин. Запишите результат.

**ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ**

Легкое вращение/встряхивание в **методе на плоскости/центрифугировании 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. Нельзя выдавать заключение о результате реакции, если поставленный одновременно контроль показывает сомнительные или неправильные результаты.
3. Обработанные ферментом эритроциты могут давать неспецифическую реакцию.
4. Присутствие в растворе альбумина бычьей крови или протеинов может вызвать неспецифические реакции.
5. Из-за различной экспрессии антигена реактивность этих реактивов против определенных фенотипов может дать более слабую реакцию по сравненению с контрольными клеткам.
6. 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 ложно-положительные реакции.

ANTITOXIN GmbH

Industriestrasse 88

69245 Bammental

Deutschland

730-13-0904 Версия 004 / Август 2007

