

AHG serum blend

Coombs serum, polyspecific, polyclonal, rabbit Anti-IgG / monoclonal, mouse Anti-C3 clone: Bric-8

Für den direkten und indirekten Coombs-Test

NUR ZUR IN-VITRO-DIAGNOSTIK

ZWECKBESTIMMUNG

Polyspezifisches Coombs serum für die Blutgruppenserologie enthält Antikörper gegen Immunglobuline sowie gegen Komplementfaktoren. Das vorliegende AHG blend enthält polyklonales Reagenz aus dem Plasma immunisierter Kaninchen (Anti-IgG) und monoklonales Reagenz, das aus Zellkulturüberständen der Maus-Hybridoma-Zelllinie Bric-8 (Anti-C3) gewonnen wird. Das Coombs serum ist so aufgereinigt, dass keine Reaktion mit unbeladenen menschlichen Erythrozyten erfolgt. Zur Kontrolle der erfolgten Zugabe ist das Testserum grün angefärbt. Die Anwendung dieser Testseren ist nur für qualifiziertes und geschultes Fachpersonal vorgesehen.

PRINZIP DES VERFAHRENS

Die bei Verwendung dieses Testserums angewendete Testmethode beruht auf dem Prinzip der Agglutinationstechnik. Auf menschlichen Erythrozyten vorhandene Antigene werden direkt oder indirekt mit dem entsprechenden korrespondierenden Antikörper vom IgG-Typ erkannt und beladen. Die Antikörper des AHG serum blend (Zweit-Antikörper), reagiert mit den IgG-Immunglobulinen und / oder C3 Komplement-faktoren (C3d und C3b) die an der Oberfläche der roten Blutkörperchen gebunden sind.

TESTSEREN

Das aufgeführte polyspezifische Coombs serum blend wird in folgender Form angeboten:

AHG serum blend Coombs serum, polyspecific, polyclonal, rabbit Anti-IgG / monoclonal, mouse Anti-C3 clone: Bric-8

Das Testserum enthält als Konservierungsmittel <0.1% (w/v) Natriumazid. Außer dem aktiven Antikörperbestandteil und tierischem Serum beinhaltet das Testserum Natriumchlorid, hochmolekulare Verbindungen und Rinderalbumin, das durch die US Veterinary Service Inspektoren überprüft und zertifiziert wurde.

WARNUNG

Dieses Testserum wird aus tierischen Plasmen bzw. aus zellkulturüberständen hergestellt. Dieses biologische Produkt sollte wegen nie völlig auszuschließender Gefährdung durch Krankheitserreger als potentiell infektiös angesehen werden. Das Testserum enthält Natriumazid, das toxisch wirken und mit Blei oder Kupfer explosive Salze bilden kann. Bei der Entsorgung mit reichlich Wasser nachspülen. Aus den oben genannten Gründen sollte dieses Testserum mit angemessener Sorgfalt gehandhabt werden.

LAGERUNG

Ungeöffnet und nach dem erstmaligen Öffnen gut verschlossen bei +2 bis +8 °C lagern, kurzzeitig zur Anwendung auch bei Raumtemperatur. Grundsätzlich nur bis zum angegebenen Verfallsdatum lagern und anwenden.

HINWEISE

1. Es sollten bei jeder Austestung positive und negative Kontrollen mitgeführt werden.
2. Unsachgemäße Lagerung beeinträchtigt die Wirksamkeit des Produktes.
3. Die Reaktionsfähigkeit des Testserums wird durch eine leichte Trübung nicht beeinträchtigt. Eine bakterielle und chemische Kontamination ist zu vermeiden. Wenn eine sichtbare Veränderung des Testserums festgestellt wird, kann dies auf eine mikrobielle Kontamination hinweisen und das Testserum sollte nicht mehr eingesetzt werden.
4. Die Stärke der positiven Reaktion ist vom Alter des verwendeten Blutes abhängig.
5. Zentrifugieren außerhalb des angegebenen Drehzahl-Bereiches kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
6. Die beschriebene Testmethode zur Anwendung gilt ausschließlich für die manuelle Methode. Werden Automaten oder halbautomatische Systeme verwendet, müssen die Laboratorien die Angaben der Gerätehersteller befolgen und Validierungen nach anerkannten Verfahren durchführen.
7. Bei der Anwendung dieses Testserums sind alle gültigen nationalen Gesetze, Verordnungen und Richtlinien in ihrer gültigen Fassung zu beachten, in Deutschland insbesondere die „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“¹.

PROBENVORBEREITUNG

1. Blutproben sollten mit einer der üblichen Entnahmetechnik gewonnen werden.
2. Das auszutestende Blut sollte so bald wie möglich nach der Blutentnahme gefügt werden, um die Gefahr falsch positiver bzw. falsch negativer Reaktionen, durch unsachgemäße Lagerung oder Kontamination der Probe, zu minimieren. Nicht sofort getestetes Blut ist bei +2 bis +8 °C zu lagern. Mit EDTA antikoagulierte Blutproben müssen innerhalb von 7 Tagen und mit Natriumzitrat behandelte Proben innerhalb von 14 Tagen nach der Entnahme getestet werden. Konserven/Spenderblute können bis zum Verfallsdatum ausgetestet werden.

VORBEREITUNG DER TESTSEREN

Eine Vorbereitung des Testserums ist nicht erforderlich. Das Testserum kann direkt aus dem Fläschchen entnommen und eingesetzt werden.

VERFAHRENSWEISE

Nicht im Lieferumfang enthaltene, aber benötigte Materialien

Röhrchenmethode:

1. Teströhrchen (10 x 75 mm oder 12 x 75 mm)
2. Mikroliterpipette
3. Kurzzeitwecker
4. Brutschrank
5. Zentrifuge
6. isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9% Natriumchlorid)
7. Anti-Human-Globulin- Serum (Coombs-Serum / AHG-Serum)

Testdurchführung

Direkter Anti-Globulin-Test (Coombs-Test)

Röhrchen-Zentrifugationsmethode

1. 2-5%ige Erythrozytensuspensionen in isotonischer Kochsalzlösung vorbereiten. (Erythrozyten können vorab 1-3 Mal mit isotonischer Kochsalzlösung gewaschen werden).
2. In ein beschriftetes Teströhrchen 100 µL des AHG serum blend geben und anschließend 100 µL der entsprechenden Erythrozytensuspension zugeben. Alternativ können zwei Tropfen AHG serum blend = ca. 100µL und ein Tropfen = ca. 50 µL Erythrozytensuspension zusammengegeben werden.
3. Die Erythrozyten-/Testserummischung durch leichtes Schütteln mischen.
4. Teströhrchen 5-15 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
5. Teströhrchen 1 Minute bei 1.000 U/min (ca. 180-270 x g) zentrifugieren.
6. Zellen durch vorsichtiges Schütteln vollständig vom Röhrchenboden lösen und innerhalb 3 Minuten makroskopisch auf Agglutination prüfen.
7. Ergebnis protokollieren.

Indirekter Anti-Globulin-Test (Coombs-Test)

Röhrchen-Zentrifugationsmethode

1. 2-5%ige Erythrozytensuspensionen in isotonischer Kochsalzlösung vorbereiten. (Erythrozyten können vorab 1-3 Mal mit isotonischer Kochsalzlösung gewaschen werden).
2. In ein beschriftetes Teströhrchen 100 µL des Testserums geben und anschließend 100 µL der entsprechenden Erythrozytensuspension zugeben. Alternativ können ein Tropfen = ca. 50 µL Testserum und ein Tropfen = ca. 50 µL Erythrozytensuspension zusammengegeben werden.
3. Die Erythrozyten-/Testserummischung durch leichtes Schütteln mischen.
4. Teströhrchen 30 Minuten bei +37 °C im Brutschrank inkubieren.
5. Die Erythrozyten dreimal mit (kalter) isotonischer Kochsalzlösung waschen.
6. Anschließend in das Teströhrchen 100 µL Anti-Human-Globulin-Serum (Coombs-Serum / AHG-Serum) geben, durch leichtes schütteln den Zellknopf vom Röhrchenboden lösen und mit dem Coombs serum blend / AHG serum blend mischen.
7. Teströhrchen 1 Minute bei 1.000 U/min (ca. 180-270 x g) zentrifugieren.
8. Zellen durch vorsichtiges Schütteln vollständig vom Röhrchenboden lösen und innerhalb 3 Minuten makroskopisch auf Agglutination prüfen.
9. Ergebnis protokollieren.

INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

"Vorsichtiges Aufschütteln des Erythrozytensediments" bei der Röhrchen-Zentrifugationsmethode.

Positives Ergebnis (+): Eine Agglutination der Erythrozyten ist als positives Testergebnis zu werten und zeigt die Anwesenheit des entsprechenden Antigens an.











Negatives Ergebnis (-): Das Fehlen einer Agglutination der Erythrozyten ist als negatives Testergebnis zu bewerten, das entsprechende Antigen ist nicht nachweisbar.

GRENZEN DER TESTMETHODEN

1. Ungenauigkeiten bei der Einhaltung der Anweisungen in den Abschnitten „Testdurchführung“ und „Interpretation der Testergebnisse“ können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
2. Mitgeführte Kontrollen mit nicht eindeutigen oder falschen Ergebnissen führen automatisch zur nicht Verwertbarkeit aller Ergebnisse.
3. Enzymbehandelte Erythrozyten oder die Zugabe von Rinderalbumin und/oder anderer proteinhaltiger Lösungen können zu unspezifischen Reaktionen führen.
4. Hämolytierte, trübe, kontaminierte oder geronnene Blutproben dürfen nicht eingesetzt werden.
5. Aufgrund der unterschiedlichen Ausprägung der Antigene kann es bei bestimmten Phänotypen zu einer schwächeren Reaktion kommen als mit Kontrollerythrozyten.
6. Kein einzelnes Testserum oder eine einzelne Methode können garantieren alle seltenen oder schwachen Antigene und alle Varianten der Antigene zu detektieren.²
7. Ungenügendes Waschen der Erythrozyten kann zu falschen Ergebnissen führen.
8. Eine Kontamination des AHG serums blend mit menschlichem Protein kann zum Verlust der Aktivität und somit zu falsch negativen Ergebnissen führen.
9. Es ist in der Literatur beschrieben, dass es mit Proben von Patienten, die mit anti-CD38 monoklonalen Antikörpern behandelt werden, zu falsch positiven Ergebnissen im Coombs-Test kommen kann.⁵

LITERATUR

1. Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)
2. CLSI, I/LA33-A Validatin of Automated System for Immunhematological Testing Before Implementation; Approved Guideline CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE Dezember 2009
3. Peter D. Issit, David J. Anstee Applied Blood Group Serology fourth edition, Montgomery Scientific Publications 1998
4. Christian Mueller-Eckhardt, Volker Kiefel Transfusionsmedizin, 3. Auflage, Springer-Verlag 2004.
5. Blood Transfusion Management for Patients Treated with Anti-CD38 monoclonal Antibodies. Frontiers in Immunology November 2018 / Artikel 2616





 REF	Artikel-Nummer	 LOT	Charge
	Lagerung von - bis		Verfallsdatum
 IVD	In-Vitro Diagnostikum		EG CE Symbol
	Hersteller nach 98/79/EG		Gebrauchsinformation beachten
 UDI	Unique Device Identification		Vertreiber

REF

BG1510 AHG serum blend Coombs serum, polyspecific, polyclonal, rabbit Anti-IgG / monoclonal, mouse Anti-C3 clone: Bric-8 10 ml

730-13-1708 Version 008 / 01.04.2022

CE

 ANTI TOXIN GmbH Industriestraße 88 69245 Bammental Deutschland
 +49 (0) 6223/ 8661-0  +49 (0) 6223/ 8661-13  gara@antitoxin-gmbh.de

sifin

sifin diagnostics gmbh
Berliner Allee 317-321
13088 Berlin / Germany
 +49 30 700 144-0

AHG serum blend

Coombs serum, polyspecific, polyclonal, rabbit Anti-IgG / monoclonal, mouse Anti-C3 clone: Bric-8

For direct and indirect Coombs-Test
FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE ONLY

INTENDED USE

Polyspecific Coombs serum for blood group serology contains antibodies against Immunoglobulins and complement factors. The present AHG serum blend contains polyclonal reagent from the plasma of immunized rabbits (Anti-IgG) and monoclonal reagent from cell culture supernatants from mouse hybridoma cell line Bric-8 (anti-C3). The form of preparation takes care, that no reaction with uncoated human erythrocytes takes place.

For secure addition of reagent green colour is added.
The reagent is intended to be used by qualified and technical personnel only.

PRINCIPLE OF PROCEDURE

The test method use with this reagent is based on the principle of agglutination. Antigens present on human erythrocytes are directly or indirectly detected and loaded with the corresponding antibody of the IgG-Type. The antibodies of the AHG serum blend (secondary antibody), reacts with the IgG immunoglobulins and / or C3 complement factors (C3d and C3b) that are bound to the surface of the red blood cells.

REAGENTS

The listed polyspecific Coombs serum blend is available in following formulation:

AHG serum blend Coombs serum, polyspecific, polyclonal, rabbit Anti-IgG / monoclonal, mouse Anti-C3 clone: Bric-8

The reagent contains <0.1% (w/v) sodium azide as preservative.
Beside the parts active antibody and animal serum, the reagent contains sodium chloride, macromolecules and bovine albumin, which has been tested and certified by the US Veterinary service inspectors.

WARNING

The reagent is prepared from animal plasma and supernatants of cell cultures.
As biological products they should be looked upon as potentially infectious because of never complete exclusion of danger through excitants of disease. The reagent contains sodium azide that may be toxic and may react with lead or copper to form highly explosive salts.
On disposal, flush with large quantities of water.
For the reasons mentioned above, the reagent should be handled with proper care.

STORAGE REQUIREMENT

Store opened and unopened products at +2 to +8°C.
May be at room temperature while in use.
In principle, store and use the reagent to indicated expiry date only.

REMARKS

- With each testing positive and negative controls should be performed.
- Inappropriate storage impairs efficacy of the reagent.
- Weak turbidity of the reagent does not affect its reactivity. Bacteria and chemical contamination of the product should be avoided. If a visible change is detected, it may indicate a microbiological contamination, the reagent should no longer be used.
- Strength of positive reactions also depends on age of used blood
- Centrifugation outside the specified speed range may lead to false results.
- The test method identified below is for manual testing only. When using automated or semi-automated instruments, follow the procedures that are contained in the operator's manual provided by the device manufacturer. Laboratories must follow approved validation procedures.
- For usage of this reagent all effective national laws, directives and guidelines have to be observed in its current valid version, in Germany especially the „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“.

SAMPLE PREPARATION

- Blood sample should be collected by approved medical procedure.
- Blood sample to be tested should be used as soon as possible after blood collection to reduce the risk of false-positive and false-negative results due to improper storage or contamination of the sample.
If a delay in testing occurs, sample should be stored at +2 to +8°C.
Blood drawn into EDTA should be tested within 7 days and sample treated with sodium citrate within 14 days after collection.
Blood bag / Donor Blood can be tested until the expiry date.

REAGENT PREPARATION

There is no preparation of the reagent required.
Take and use reagent directly from the vials.

PROCEDURE

Not provided material, additionally needed

- Tube Centrifugation Method:
- tubes (10 x 75 mm or 12 x 75 mm)
 - microliter pipette
 - timer
 - incubator
 - centrifuge
 - isotonic saline (0,85 - 0,9% sodium chloride)
 - Anti-Human-Globulin-Reagent (Coombs-Serum / AHG- Serum)

Test procedure

Direct Anti-Globulin-Test (Coombs-Test)

Tube Centrifugation Method

- Prepare 2% to 5% suspensions of red blood cells in isotonic saline (red blood cells may be washed 1-3 times with isotonic saline).
- At first put 100 µL of the AHG serum blend in a marked tube, subsequently add 100 µL of appropriate cell suspension.
Alternative one drop = approximately 50 µL cell suspension can be added to two drops = approximately 100 µL AHG serum blend.
- Mix Erythrocytes- / Reagent-mixture well by slightly shaking.
- Incubate tube at room temperature for 5-15 min.
- Centrifuge tube for 1 min at 1.000 rpm (approximately 180-270 x g).
- Gently shake the red cells from the bottom of the tube and check macroscopically for agglutination within 3 minutes.
- Document the result.

Indirect Anti-Globulin-Test (Coombs-Test)

Tube Centrifugation Method

- Prepare 2% to 5% suspensions of red blood cells in isotonic saline (red blood cells may be washed 1-3 times with isotonic saline).
- At first put 100 µL of reagent in a marked tube, subsequently add 100 µL of appropriate cell suspension.
Alternative one drop = approximately 50 µL cell suspension can be added to one drop = approximately 50 µL reagent.
- Mix Erythrocytes- / Reagent-mixture well by slightly shaking.
- Incubate tube in an incubator at +37 °C for 30 min.
- Wash red cells 3 times with (cold) isotonic saline.
- Subsequently add 100 µL AHG serum blend (Coombs-Serum) to the tube, release the cells from the bottom of the tube by slightly shaking and mix with the Coombs-Serum.
- Centrifuge tube for 1 min at 1.000 rpm (approximately 180-270 x g).
- Gently shake the red cells from the bottom of the tube and check macroscopically for agglutination within 3 minutes.
- Document the result.

INTERPRETATION OF RESULTS



"Slightly shake up" of the erythrocyte sediment 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

- Inaccuracy at compliance with instructions written under section "Procedures" and "Interpretation of results" may lead to incorrect results.
- No valid conclusion concerning the test result can be reached, if controls with uncertain or false results occur.
- Enzyme treated erythrocytes or addition of bovine albumin and / or other solutions containing protein may cause unspecific reactions.
- Hemolyzed, turbid, contaminated or clotted samples should not be used.
- Due to variability of antigen expression, reactivity of this reagent against certain phenotypes may give weaker reactivity compared to control cells.
- No one specific antiserum or technique can be guaranteed to detect all rare, weak or variant Antigens.²
- Insufficient washing of erythrocytes may cause false results.
- Contamination of reagent with human protein may inactivate the antibodies and cause false negative results
- As described in the literature, samples from patients treated with anti-CD38 monoclonal antibodies can cause false positive results in the Coombs test.⁵

LITERATURE

- Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)
- CLSI, I/LA33-A
Validation of Automated System for Immunhematological Testing Before Implementation; Approved Guideline
CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE Dezember 2009
- Peter D. Issitt, David J. Anstee
Applied Blood Group Serology, fourth edition, Montgomery Scientific Publications 1998
- Christian Mueller-Eckhardt, Volker Kiefel
Transfusionsmedizin, 3. Auflage, Springer-Verlag 2004.
- Blood Transfusion Management for Patients Treated with Anti-CD38 monoclonal Antibodies.
Frontiers in Immunology November 2018 / Artikel 2616





 REF	Product Code	 LOT	Lot
	Store from - to		Expiration Date
 IVD	In-Vitro Diagnostic		EU CE symbol
	Manufacturer as to 98/79/EG		Observe instruction for use
 UDI	Unique Device Identification		Distributor

REF

BG1510 AHG serum blend Coombs serum, polyspecific, polyclonal, rabbit Anti-IgG / monoclonal, mouse Anti-C3 clone: Bric-8 10 ml

730-13-1708 Version 008 / 01.04.2022



 ANTITOXIN GmbH Industriestraße 88 69245 Bammental Deutschland
 +49 (0) 6223/ 8661-0  +49 (0) 6223/ 8661-13  gara@antitoxin-gmbh.de

sifin

sifin diagnostics gmbh
Berliner Allee 317-321
13088 Berlin / Germany
 +49 30 700 144-0