

# Anti-Fy<sup>a</sup> Coombs-reaktiv, polyklonal, human

## Anti-Fy<sup>b</sup> Coombs-reaktiv, polyklonal, human

Für den indirekten Coombs-Test  
NUR ZUR IN-VITRO-DIAGNOSTIK

# Anti-Fy<sup>a</sup> Coombs-reactive, polyclonal, human

## Anti-Fy<sup>b</sup> Coombs-reactive, polyclonal, human

For indirect Coombs-test  
FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE ONLY

### ALLGEMEINES

Polyklonale Coombs-reaktive Anti-Fy<sup>a</sup> und -Fy<sup>b</sup> Testseren werden aus humanen Plasmen hergestellt, die spezifische Antikörper vom IgG-Typus gegen diese Blutgruppenantigene enthalten. Die Testseren werden zur Bestimmung des Vorhandenseins oder Fehlens der Blutgruppenantigene Fy<sup>a</sup> und Fy<sup>b</sup> auf menschlichen Erythrozyten verwendet. Die Anwendung dieser Testseren ist nur für qualifiziertes und geschultes Fachpersonal vorgesehen.

### PRINZIP DES VERFAHRENS

Die bei Verwendung dieser Produkte angewendete Methodik beruht auf dem Prinzip der Agglutination. Normale menschliche Erythrozyten, die das entsprechende Antigen tragen, werden durch den korrespondierenden spezifischen Antikörper erkannt, beladen und anschließend durch einen Zweit-Antikörper, der humane IgG-Moleküle erkennt, agglutiniert.

### PRODUKTNAME

Die aufgeführten Blutgruppentestseren werden in einer Form angeboten, die sich nur durch die Spezifität der Antikörper unterscheidet:

Anti-Fy<sup>a</sup> Coombs-reactive, polyclonal, human

Anti-Fy<sup>b</sup> Coombs-reactive, polyclonal, human

Beide Testseren enthalten als Konservierungsmittel <0.1% (w/v) Natriumazid. Außer dem aktiven Antikörper-Bestandteil und menschlichem Serum beinhalten die Testseren Natriumchlorid, hochmolekulare Verbindungen und Rinderalbumin.

### WARNUNG

Diese Testseren wurden aus humanen Plasmen hergestellt. Unabhängig davon, dass die Ausgangsmaterialien negativ auf HBsAg sowie HIV 1/2- und HCV-Antikörper geprüft wurden, sollten diese Produkte wegen nie völlig auszuschließender Gefährdung durch Krankheitserreger als potentiell infektiös angesehen werden. Die Testseren enthalten 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 sollten die Testseren 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 (+15 bis +30 °C). Grundsätzlich nur bis zum angegebenen Verfallsdatum lagern und anwenden!

### HINWEISE

- Die Stärke der positiven Reaktion ist vom Alter des verwendeten Blutes abhängig.
- Es sollten bei jeder Austestung positive und negative Kontrollen mitgeführt werden.
- Die Reaktionsfähigkeit der Testseren wird durch leichte Trübung nicht beeinträchtigt.
- Unschonungsmäßige Lagerung beeinträchtigt die Wirksamkeit der Produkte.
- Zentrifugieren außerhalb des angegebenen Drehzahl-Bereiches kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Das auszusetzende Blut sollte möglichst rasch geprüft werden. Nicht sofort getestetes Blut ist bei +2 bis +8 °C zu lagern. Mit EDTA oder Natriumzitrat antikoagulierte Blutproben müssen innerhalb von 14 Tagen getestet werden.
- Das beschriebene Verfahren zur Anwendung gilt ausschließlich für manuelle Methoden. Werden Automaten oder halbautomatische Systeme verwendet, müssen die Labore die Angaben der Gerätehersteller befolgen und Validierungen nach anerkannten Verfahren durchführen.
- Bei der Anwendung der Testseren sind alle gültigen nationalen Gesetze, Verordnungen und Richtlinien zu beachten, in Deutschland insbesondere die „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“ in ihrer gültigen Fassung.

### VORBEREITUNG DER TESTSEREN

Eine Vorbereitung der Testseren ist nicht erforderlich. Die Seren werden direkt aus den Fläschchen entnommen und eingesetzt.

### VERFAHRENSWEISE

Nicht im Lieferumfang enthaltene, aber benötigte Materialien

#### bei der Röhrchenmethode

- Teströhrchen, 10 x 75 mm oder 12 x 75 mm
- Mikroliterpipette für 100 µL, 50 µL
- Zentrifuge
- Brutschrank
- Isotonische Kochsalzlösung; 0,85 - 0,9% Natriumchlorid
- Anti-Human-Globulin-Serum (Coombs-Serum)

### Testdurchführung

#### Röhrchen-Zentrifugationstest

- Nur 2-5%ige Erythrozytensuspension in isotonischer Kochsalzlösung (ein- bis dreimal mit isotonischer Kochsalzlösung gewaschen) verwenden.
- In jedes Teströhrchen 100 µL (oder alternativ je einen Tropfen = ca. 50 µL) des entsprechenden Testserums geben.
- Zu jedem Teströhrchen 100 µL (oder alternativ je einen Tropfen = ca. 50 µL) der entsprechenden Erythrozytensuspension geben.
- Die Erythrozyten-/Testserenmischungen durch leichtes Schütteln gut mischen.
- Teströhrchen 30 Minuten bei +37 °C inkubieren.
- Die Erythrozyten dreimal mit (kalter) isotonischer Kochsalzlösung waschen.
- Zu jedem Teströhrchen 100 µL Anti-Human-Globulin-Serum (Coombs-Serum) geben.
- Teströhrchen 1 Minute bei 1.000 U/min (ca. 180-270 x g) zentrifugieren.
- Zellen durch vorsichtiges Schütteln vollständig resuspendieren und innerhalb 3 Minuten makroskopisch auf Agglutination untersuchen. Ergebnisse protokollieren.

### INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

"Vorsichtiges Schütteln" beim Röhrchen-Zentrifugationstest

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.

### INTRODUCTION

Polyclonal Coombs-reactive Anti-Fy<sup>a</sup> and -Fy<sup>b</sup> reagents are produced from human plasma that contains a specific antibody of IgG-type, which reacts exclusively with the corresponding antigen. The reagents are used to determine whether red blood cells possess or lack the corresponding blood group antigens Fy<sup>a</sup> and Fy<sup>b</sup>. The reagents are intended to be used by qualified and technical personnel only.

### PRINCIPLE OF PROCEDURE

The procedure used with these reagents is 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 then the cells will be agglutinated by a secondary antibody that reacts with human IgG-molecules.

### PRODUCT NAME

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

Anti-Fy<sup>a</sup> Coombs-reactive, polyclonal, human

Anti-Fy<sup>b</sup> Coombs-reactive, polyclonal, human

Both 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 materials for these products are tested for HBsAg, HIV 1/2- 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 excipients of disease. The reagents contain 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 reagents should be handled with proper care.

### STORAGE REQUIREMENT

Store unopened and opened products tightly sealed 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.

### REMARKS

- Strength of positive reactions also depends on age of used blood.
- With each testing positive and negative controls should be executed.
- Weak turbidity of the reagent does not affect its reactivity.
- Inappropriate storage impairs efficacy of the reagents.
- Centrifugation highly different from appointed relative centrifugal force will lead to faulty results.
- 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.
- The procedure 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 to demonstrate compatibility of these products on such automated systems.
- For usage of these reagents all effective national laws, directives and guidelines have to be observed, in Germany especially the current „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 Tube Centrifugation Method

- Test tubes, 10 x 75 mm or 12 x 75 mm
- Pipettes designed to deliver approximately 100 µL, 50 µL
- Centrifuge
- Incubator
- Isotonic saline; 0,85 - 0,9% sodium chloride
- Anti-human-globulin-serum (Coombs-serum)

### Test procedure

#### Tube Centrifugation Method

- 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.
- Add 100 µL (alternative: one drop = approximately 50 µL) of appropriate reagent to each tube.
- Add 100 µL (alternative: one drop = approximately 50 µL) of appropriate cell suspension to each tube.
- Mix well by slightly shaking.
- Incubate tube at +37 °C for 30 min.
- Wash red cells 3 times with (cold) isotonic saline.
- Add 100 µL Anti-Human-Globulin-serum (Coombs-serum) to each tube.
- Centrifugation of tube for 1 min at 1.000 rpm (approximately 180-270 x g).
- 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.

## 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 anderen proteinhaltigen Lösungen können mit diesen Testseren unspezifisch reagieren.
4. Aufgrund der unterschiedlichen Ausprägung der Antigene kann es bei bestimmten Phänotypen mit diesen Testseren zu einer schwächeren Reaktion kommen als mit Kontrollerythrozyten.
5. Erythrozyten, die mit Alloantikörpern oder Autoantikörpern derselben oder einer anderen Spezifität wie das Testserum sensibilisiert sind (z.B. Erythrozyten positiv im direkten Antiglobulintest (DAT)), sind für diese Austestung ungeeignet.
6. Die beschriebenen Verfahren zur Anwendung gelten für die Verwendung des Coombs-Serums der Antitoxin GmbH. Grundsätzlich sind auch Coombs-Seren anderer Hersteller dafür geeignet, die Labore müssen bei deren Einsatz jedoch die Angaben der Hersteller befolgen und Validierungen nach anerkannten Verfahren durchführen.

## LEISTUNGSDATEN

Eine Leistungsbewertung für die Produkte wurde durchgeführt. Es wurden unterschiedliche Proben (Spender-, Patienten-, Panelblute) eingesetzt und mit anderen Produkten verglichen.

| Produkt               | Positive | Negative | Falsch Positive | Falsch Negative |
|-----------------------|----------|----------|-----------------|-----------------|
| Anti- Fy <sup>a</sup> | 179      | 224      | 0               | 0               |
| Anti- Fy <sup>b</sup> | 201      | 247      | 0               | 0               |

Die errechneten Werte betragen für:

| Produkt               | Sensitivität | Spezifität |
|-----------------------|--------------|------------|
| Anti- Fy <sup>a</sup> | 100%         | 100%       |
| Anti- Fy <sup>b</sup> | 100%         | 100%       |

## LITERATUR

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

## LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

1. Inaccuracy at compliance with instructions written under section "Procedures" and "Interpretation of results" may produce 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 or addition of bovine albumin and/or other solutions containing protein may cause unspecific reactions with these reagents.
4. Due to variability of antigen expression, reactivity of these reagents against certain phenotypes may give weaker reactivity compared to control cells.
5. 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.
6. 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 these products.

## PERFORMANCE CHARACTERISTICS

A performance evaluation was conducted. Different samples (donor, patient, panel blood) was used and compared with other products.

| Product               | Positive | Negative | False Positive | False Negative |
|-----------------------|----------|----------|----------------|----------------|
| Anti- Fy <sup>a</sup> | 179      | 224      | 0              | 0              |
| Anti- Fy <sup>b</sup> | 201      | 247      | 0              | 0              |

The calculated values found for:

| Product               | Sensitivity | Specificity |
|-----------------------|-------------|-------------|
| Anti- Fy <sup>a</sup> | 100%        | 100%        |
| Anti- Fy <sup>b</sup> | 100%        | 100%        |

## LITERATUR

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

ANTITOXIN GmbH  
Industriestraße 88  
69245 Bammental  
Deutschland

CE 0483

730-13-4310 Version 010 / 03. Dez 2018