

Anti-Le<sup>b</sup> monoclonal

Für den Röhrchen-Test

NUR ZUR IN-VITRO-DIAGNOSTIK

## ZWECKBESTIMMUNG

Monoklonale agglutinierende Anti-Le<sup>a</sup>, Anti-Le<sup>b</sup> Testseren werden aus Zellkulturüberständen von Hybridoma-Zelllinien gewonnen, die Antikörper sezernieren, die spezifisch gegen das korrespondierende Blutgruppenantigen gerichtet sind. Die Testseren werden zum qualitativen In-Vitro-Nachweis des Vorhandenseins oder Fehlens der Blutgruppenantigene Le<sup>a</sup>, Le<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 Testseren angewendeten Testmethode beruht auf dem Prinzip der Agglutinationstechnik. Normale menschliche Erythrozyten, die eines der entsprechenden Antigene tragen, werden durch den korrespondierenden Antikörper agglutiniert.

## TESTSEREN

Die aufgeführten Blutgruppentestseren enthalten Antikörper der folgenden Klone:

Anti-Le<sup>a</sup> monoclonal, mouse clone: LEA2Anti-Le<sup>b</sup> monoclonal, mouse clone: LEB2

Die Testseren enthalten als Konservierungsmittel <0,1% (w/v) Natriumazid. Außer dem aktiven Antikörperbestandteil beinhalten die Testseren Natriumchlorid, hochmolekulare Verbindungen und Rinderalbumin, das durch die US Veterinary Service Inspektoren überprüft und zertifiziert wurde.

## WARNUNG

Diese Testseren werden aus Zellkulturüberständen hergestellt. Unabhängig davon sollten diese biologischen 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 diese Testseren mit angemessener Sorgfalt gehandhabt werden.

## LAGERUNG

Ungeöffnet und nach dem erstmaligen Öffnen für verschlossen bei +2 bis +8 °C lagern, kurzzeitig zur Anwendung auch bei Raumtemperatur.

Grundsätzlich nur bis zum angegebenen Verfallsdatum lagern und anwenden.

## HINWEISE

- Es sollten bei jeder Austestung positive und negative Kontrollen mitgeführt werden.
- Unschonbare Lagerung beeinträchtigt die Wirksamkeit der Produkte.
- Die Reaktionsfähigkeit der Testseren wird durch eine leichte Trübung nicht beeinträchtigt. Eine bakterielle und chemische Kontamination der Testseren ist zu vermeiden. Wenn eine sichtbare Veränderung des Testserums festgestellt wird, sollte das Testserum nicht mehr eingesetzt werden, es kann auf eine mikrobielle Kontamination hinweisen.
- Die Stärke der positiven Reaktion ist vom Alter des verwendeten Blutes abhängig.
- Zentrifugieren außerhalb des angegebenen Drehzahl-Bereiches kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- 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.
- Bei der Anwendung dieser Testseren sind alle gültigen nationalen Gesetze, Verordnungen und Richtlinien<sup>1</sup> in ihrer gültigen Fassung zu beachten, in Deutschland insbesondere die Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)<sup>1</sup>.

## PROBENVORBEREITUNG

- Blutproben sollten mit einer der üblichen Entnahmetechnik gewonnen werden.
- Das auszutestende Blut sollte so bald wie möglich nach der Blutentnahme geprüf 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 der Testseren ist nicht erforderlich.

Die Testseren können 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. Zentrifuge
  5. isotonische Kochsalzlösung (0,85 - 0,9% Natriumchlorid)

## Testdurchführung

## Röhrchen-Zentrifugationsmethode

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

## INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

"Vorsichtiges Schütteln" 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

- Ungenauigkeiten bei der Einhaltung der Anweisungen in den Abschnitten „Testdurchführung“ und „Interpretation der Testergebnisse“ können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Mitgeführte Kontrollen mit nicht eindeutigen oder falschen Ergebnissen führen automatisch zur nicht Verwertbarkeit aller Ergebnisse.
- Enzymbehandelte Erythrozyten oder die Zugabe von Rinderalbumin und/oder anderer proteinhaltiger Lösungen können mit diesen Testseren zu unspezifischen Reaktionen führen.
- Hämolytierte, trübe, kontaminierte oder geronnene Blutproben dürfen nicht eingesetzt werden.
- Aufgrund der unterschiedlichen Ausprägung der Antigene kann es bei bestimmten Phänotypen mit diesen Testseren zu einer schwächeren Reaktion kommen als mit Kontrollerythrozyten.
- Kein einzelnes Testserum oder eine einzelne Methode können garantieren alle seltenen oder schwachen Antigene und alle Varianten der Antigene zu detektieren.<sup>2</sup>
- Erythrozyten, die mit Alloantikörpern oder Autoantikörpern derselben oder einer ähnlichen Spezifität wie das für den Test eingesetzte Testserum sensibilisiert sind (z.B. Erythrozyten positiv im direkten Antiglobulintest), sind für die Austestung ungeeignet.
- In einigen Fällen kann es bei Le<sup>a</sup> oder Le<sup>b</sup> negativen Zellen zu schwach positiven Reaktionen kommen. Dieses Phänomen tritt besonders bei kommerziellen Testzellen auf. Einfaches Waschen der Zellen kann das Problem reduzieren.

## LITERATUR

- Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)
- CLSI, I/LA33-A Validatin of Automated System for Immunhematological Testing Before Implementation; Approved Guideline CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE Dezember 2009
- Peter D. Issit, David J. Anstee Applied Blood Group Serology, fourth edition, Montgomery Scientific Publications 1998
- Christian Mueller-Eckhardt, Volker Kiefel Transfusionsmedizin, 3. Auflage, Springer-Verlag 2004.

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

## REF

69241 Anti-Le<sup>a</sup> monoclonal, mouse clone: LEA2 5 ml69242 Anti-Le<sup>b</sup> monoclonal, mouse clone: LEB2 5 ml

730-13-9612 Version 012 / 20. Januar 2022



**BAG**  
DIAGNOSTICS

**BAG Diagnostics GmbH**  
Amtsgerichtsstr. 1-5  
35423 Lich/Germany  
**A BAG Group company**

**T.** +49 (0) 6404/925-100  
**F.** +49 (0) 6404/925-460  
**M.** info@bag-diagnostics.com  
**W.** www.bag-diagnostics.com

**Ordering:**  
**T.** +49 (0) 6404 / 925 - 450  
**F.** +49 (0) 6404 / 925 - 460  
**M.** order@bag-diagnostics.com

**Customer Service:**  
**T.** +49 (0) 6404 / 925 - 125  
**F.** +49 (0) 6404 / 925 - 421  
**M.** service@bag-diagnostics.com

# Anti-Le<sup>a</sup> monoclonal

English

# Anti-Le<sup>b</sup> monoclonal

For Tube Test

FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE ONLY

## INTENDED USE

Monoclonal agglutinating Anti-Le<sup>a</sup>, Anti-Le<sup>b</sup> reagents are produced from cell culture supernatants of hybridoma-cell lines. The cells are secreting antibodies which reacts specific with the corresponding blood group antigen. The reagents are used for In-Vitro-Diagnostic, to determine qualitative, whether human red blood cells possess or lack the corresponding blood group antigen Le<sup>a</sup>, Le<sup>b</sup>.

The reagents are intended to be used by qualified and technical personnel only.

## PRINCIPLE OF PROCEDURE

The test method used with these reagents are based on the principle of agglutination. Normal human erythrocytes, possessing one of the appropriate antigens, will agglutinate in the presence of the specific antibody directed toward the antigen.

## REAGENTS

The listed reagents contain antibodies of the following clones:

Anti-Le<sup>a</sup> monoclonal, mouse clone: LEA2

Anti-Le<sup>b</sup> monoclonal, mouse clone: LEB2

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

## WARNING

The reagents are prepared from supernatants of cell cultures. Nevertheless as biological products they 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.

On disposal, flush with large quantities of water.

For the reasons mentioned above, reagents 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 reagents to indicated expiry date only.

## REMARKS

1. With each testing positive and negative controls should be performed.
2. Inappropriate storage impairs efficacy of the reagents.
3. Weak turbidity of the reagents 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.
4. Strength of positive reactions also depends on age of used blood
5. Centrifugation outside the specified speed range may lead to false results.
6. 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.
7. For usage of the reagents all effective national laws, directives and guidelines have to be observed in its current version, in Germany especially the „Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“<sup>1</sup>.

## SAMPLE PREPARATION

1. Blood sample should be collected by approved medical procedure.
2. 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 reagents required. Take and use reagents directly from the vials.

## PROCEDURE

Not provided material, additionally needed

- Tube Centrifugation Method:
1. tubes (10 x 75 mm or 12 x 75 mm)
  2. microliter pipette
  3. timer
  4. centrifuge
  5. isotonic saline (0,85 - 0,9% sodium chloride)

## Test procedure

### Tube Centrifugation Method

1. Prepare 2% to 5% suspensions of red blood cells in isotonic saline (red blood cells may be washed 1-3 times with isotonic saline).
2. At first put 100 µL of appropriate 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.
3. Mix Erythrocytes-/Reagent-mixture well by slightly shaking.
4. Incubate tube at room temperature for 15 min.
5. Centrifuge tube for 1 min at 1.000 rpm (approximately 180-270 x g).
6. Gently shake the red cells from the bottom of the tube and check macroscopically for agglutination within 3 minutes.
7. 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 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 or addition of bovine albumin and/or other solutions containing protein may cause unspecific reactions.
4. Hemolyzed, turbid, contaminated or clotted samples should not be used.
5. Due to variability of antigen expression, reactivity of the reagents against certain phenotypes may give weaker reactivity compared to control cells.
6. No one specific antiserum or technique can be guaranteed to detect all rare, weak or variant Antigens.<sup>2</sup>
7. Red blood cells coated with alloantibodies or autoantibodies of the same or similar specificity as that reagent used for the test (i.e., cells that are positive in the direct antiglobulin-test (DAT)) are not suitable for this test procedure.
8. There may be weak positive reactions with Le<sup>a</sup> or Le<sup>b</sup> negative cells. This phenomenon occurs especially with commercial test cells and may be reduced by washing the cells.

## LITERATURE

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.

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

## REF

69241 Anti-Le<sup>a</sup> monoclonal, mouse clone: LEA2 5 ml

69242 Anti-Le<sup>b</sup> monoclonal, mouse clone: LEB2 5 ml

730-13-9612 Version 012 / 20. January 2022



**BAG**  
DIAGNOSTICS

**BAG Diagnostics GmbH**  
Amtsgerichtsstr. 1-5  
35423 Lich/Germany  
**A BAG Group company**

**T.** +49 (0) 6404/925-100  
**F.** +49 (0) 6404/925-460  
**M.** info@bag-diagnostics.com  
**W.** www.bag-diagnostics.com

**Ordering:**  
**T.** +49 (0) 6404 / 925 - 450  
**F.** +49 (0) 6404 / 925 - 460  
**M.** order@bag-diagnostics.com

**Customer Service:**  
**T.** +49 (0) 6404 / 925 - 125  
**F.** +49 (0) 6404 / 925 - 421  
**M.** service@bag-diagnostics.com