

Anti-Le^a (Lewis^a) Anti-Le^b (Lewis^b) monoklonal (IgM)



Elektronische Gebrauchsinformation siehe www.bag-healthcare.com

| Produkt | | Klon | REF |
|---------------------------------------|------|------|-------|
| Anti-Le ^a monoklonal (IgM) | 5 ml | LEA2 | 67311 |
| Anti-Le ^b monoklonal (IgM) | 5 ml | LEB2 | 67321 |

IN VITRO DIAGNOSTIKA

1. Produktbeschreibung

Anti-Le^a (Klon **LEA2**) und Anti-Le^b (Klon **LEB2**) werden aus monoklonalen Maus IgM-Antikörpern hergestellt. Die Klonbezeichnungen sind auf den Etiketten der Testreagenzien angegeben.

Anti-Le^a und Anti-Le^b monoklonal (IgM) dienen zum Nachweis der korrespondierenden Antigene auf Erythrozyten und sind für den Röhrchentest geeignet.

Als Konservierungsmittel ist den Testreagenzien < 0,1% NaN₃ zugesetzt.

2. Testprinzip

Die angegebene Testmethode beruht auf dem Prinzip der Haemagglutination. Nach Zugabe von Erythrozyten zu den monoklonalen Testreagenzien findet eine spezifische Antigen-Antikörper-Reaktion statt, wenn das korrespondierende Antigen auf den Erythrozyten vorhanden ist. Diese Reaktion ist optisch durch die Agglutination der Erythrozyten erkennbar. Wenn keine Agglutination stattfindet, zeigt dies ein negatives Ergebnis an und weist unter Berücksichtigung der Einschränkungen der Testmethode auf die Abwesenheit des korrespondierenden Antigens hin.

3. Lagerung und Haltbarkeit

Die Testreagenzien bei 2...8°C lagern. Nicht einfrieren! Die Reagenzien und Erythrozyten vor Gebrauch auf Raumtemperatur (< 20°C) erwärmen lassen und nach dem Gebrauch wieder bei 2...8°C lagern. Die Reagenzien sind bei Einhaltung der angegebenen Lagerbedingungen nach dem ersten Öffnen bis zum auf dem Etikett angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendbar, wenn sie keine Anzeichen für eine Kontamination aufweisen. Die Reagenzien nicht nach Ablauf des auf dem Etikett angegebenen Haltbarkeitsdatums benutzen. Kontaminierte Reagenzien nicht mehr benutzen!

4. Probenvorbereitung

Die Blutproben sollten entsprechend den üblichen medizinischen Verfahren entnommen werden. Blutproben mit und ohne Antikoagulanzen (EDTA, Citrat) sind für die Testung geeignet. Keine hämolytischen Proben verwenden!

Die Testung sollte, wenn möglich, ohne zeitliche Verzögerung stattfinden. Ist dies nicht möglich, die Blutproben bei 2...8°C aufbewahren

Durch eine zu lange Lagerung der Erythrozyten vor der Testung können sich die Erythrozytenantigene verändern, was abgeschwächte Reaktionen zur Folge haben kann (s. 9. Wichtige Hinweise/Grenzen der Methode).

5. Zusätzlich benötigte Materialien

Isotonische NaCl-Lösung (0,9%ig)
PBS (Phosphat gepufferte Kochsalzlösung), pH 6,8 – 7,2, oder LISS
Reagenzgläser (75 x 12 mm), vorzugsweise aus Glas
Reagenzglasständer
Einweg-Pasteur-Pipetten
Zentrifuge
Erythrozyten mit bekanntem Phänotyp

6. Testdurchführung (Röhrchentest)

1. Die zu untersuchenden Erythrozyten mindestens einmal mit kalter isotonischer NaCl-Lösung waschen und eine 2 - 3%ige Suspension in isotonischer NaCl-Lösung oder PBS, pH 6,8 – 7,2 herstellen (Alternative: 1,5 – 2%ige Suspension in LISS herstellen).
2. 1 Tropfen monoklonales Testreagenz und 1 Tropfen der Erythrozytensuspension in einem beschrifteten Röhrchen gut mischen und 10 - 15 Minuten bei Raumtemperatur (< 20°C) inkubieren.
3. 1 Minute bei 400 x g (1500 UpM) zentrifugieren oder bei alternativer Drehzahl mit angepasster Zeit.
4. Unter vorsichtigem Aufschütteln des Röhrchens makroskopisch auf Agglutination prüfen.

Anmerkungen: Den Test nicht mikroskopisch auswerten.

Erythrozyten, die in Bezug auf das jeweilige Merkmal positiv sind, und Erythrozyten, die in Bezug auf das jeweilige Merkmal negativ sind, sowie eine Negativ-Kontrolle für monoklonale Testreagenzien und eine Eigenkontrolle zur Prüfung auf Autoagglutination sind zur Kontrolle mitzuführen. Die Bestimmung der Antigene sollte mit mindestens 2 verschiedenen Testreagenzien durchgeführt werden. Bei Verwendung von zwei monoklonalen Testreagenzien sollten, wenn möglich, zwei verschiedene Klone eingesetzt werden.

7. Interpretation der Ergebnisse

Eine Agglutination der Erythrozyten mit dem Testreagenz zeigt das Vorhandensein des korrespondierenden Antigens an.

Findet keine Agglutination der Erythrozyten mit dem Testreagenz statt, weist dies auf die Abwesenheit des korrespondierenden Antigens hin.

Tritt mit der bekannt positiven Erythrozytensuspension keine Agglutination auf oder findet mit der bekannt negativen Erythrozytensuspension oder der Negativ-Kontrolle für monoklonale Testreagenzien oder der Eigenkontrolle eine Agglutination statt, kann das Testergebnis nicht gewertet werden. Treten bei der Bestimmung des Antigens mit zwei verschiedenen Testreagenzien diskrepante Ergebnisse auf, muss die Bestimmung mit einer anderen Testmethode und/oder einem weiteren Testreagenz wiederholt werden.

Bei der Interpretation der Ergebnisse müssen die Grenzen der Methode (s. 9. Wichtige Hinweise/Grenzen der Methode) beachtet werden.

8. Stabilität der Reaktionen

Alle Testergebnisse müssen unmittelbar nach Beendigung der Testdurchführung beurteilt werden.

9. Wichtige Hinweise/Grenzen der Methode

1. Die Testreagenzien sind nur für den in vitro diagnostischen Gebrauch geeignet und dürfen nur von geschultem Fachpersonal eingesetzt werden.
2. Die Testreagenzien dürfen nicht für die Testung von Enzym-behandelten Erythrozyten eingesetzt werden.
3. Hämolytische Proben sollten nicht verwendet werden.
4. Die Stärke der positiven Reaktionen ist vom Alter des verwendeten Blutes abhängig. Dies trifft insbesondere für EDTA und Nativblut zu. Bessere Ergebnisse werden mit frisch abgenommenem Blut erzielt.
5. Der Klon LEB2 besitzt eine Anti-Le^b H Spezifität und reagiert stärker mit Erythrozyten der Blutgruppe 0. Der Klon reagiert mit Erythrozyten der Blutgruppen A₁ und A₁B, aber die Reaktion kann manchmal schwächer ausfallen.
6. Nabelschnurerythrozyten exprimieren nicht genügend Lewis-Antigen, um durch diese Testreagenzien agglutiniert zu werden. Sie werden daher als Le (a-b-) typisiert.
7. Leichte Trübungen beeinflussen nicht die Reaktivität des Produktes.
8. In seltenen Fällen kann es bei in vivo mit Immunglobulinen beladenen Erythrozyten zu spontanen und nicht spezifischen Agglutinationen kommen. Das gleiche Phänomen tritt dann aber meistens auch bei der Bestimmung von anderen Blutgruppenmerkmalen auf. Als Kontrolle sollte deshalb immer eine Negativkontrolle für monoklonale Testreagenzien und autologes Patientenserum mitgeführt werden. Zeigen diese Kontrollen auch eine positive Reaktion, kann das Ergebnis der Blutgruppenbestimmung nicht interpretiert werden.
9. Suspensionen von ungewaschenen Erythrozyten in Plasma oder Serum fördern falsch positive Reaktionen wie solche, die mit Geldrollenbildung oder Autoantikörpern assoziiert sind. Der Einsatz von gut gewaschenen Erythrozyten kann das Auftreten solch falsch positiver Reaktionen vermindern.
10. Im Serum/Plasma des Probanden eventuell vorhandene lösliche Antigene können an der Erythrozytenoberfläche adsorbieren bzw. Antikörper, die gegen das entsprechende Antigen gerichtet sind, neutralisieren. Durch den Einsatz von gut gewaschenen Erythrozyten kann das Auftreten solch falsch negativer Reaktionen vermieden werden.
11. Bei einer Raumtemperatur über 20°C, sollten sowohl die Testreagenzien als auch die Erythrozyten vor der Tropfung auf 2...8°C gekühlt werden.
12. Eine zu späte Ablesung der Tests, ein zu starkes Aufschütteln des Erythrozyten-sediments und andere Abweichungen von der angegebenen Testdurchführung können zu schwächeren oder falsch negativen Ergebnissen führen.
13. Falsch negative oder unerwartet schwache Reaktionen können auch durch zu lange Lagerung und/oder ungeeignete Lagerbedingungen der Erythrozyten und/oder durch eine zu niedrige Zellkonzentration verursacht werden.
14. Ungeeignete Techniken, falsche Zentrifugation oder Inkubation, unsaubere Röhren, falscher pH-Wert der Lösungen und/oder kontaminierte Materialien und Proben können zu falsch negativen oder falsch positiven Ergebnissen führen.
15. Maus-monoklonale Reagenzien nicht im direkten Antiglobulintest mit Antihumanglobulin-Reagenzien verwenden.
16. Eine mikrobielle oder chemische Kontamination der Testreagenzien unbedingt vermeiden, weil dies die Haltbarkeit des Produkts verkürzen und zu falschen Ergebnissen führen kann.
17. Es ist nicht möglich, für alle verfügbaren Zentrifugentypen eine allgemein verbindliche Zentrifugationsgeschwindigkeit oder -zeit anzugeben. Zentrifugen müssen individuell kalibriert werden, um die optimale Zeit und Geschwindigkeit zu ermitteln, die benötigt wird, um eine starke Agglutination mit positiven Zellen zu erhalten und die eine vollständige und leichte Resuspendierung bei negativen Reaktionen ermöglicht.
18. Abweichungen von der vorliegenden Gebrauchsinformation können zu einer nicht optimalen Produktleistung führen. Vom Benutzer vorgenommene Änderungen wie Abweichungen vom angegebenen Testverfahren, eine Verdünnung des Serums für den

Einsatz in Automaten oder Karten, das Einfrieren des Serums auf Mikrotiterplatten etc. müssen vom Anwender validiert werden.

19. Bei der Interpretation der Ergebnisse sollte immer berücksichtigt werden, ob Transfusionen oder Transplantationen stattgefunden haben. Die Transfusions- und/oder Transplantationsanamnese, aber auch die Medikamentenanamnese, sollte zur Interpretation herangezogen werden.

10. Warn- und Entsorgungshinweise

Alle für den Test eingesetzten Materialien biologischen Ursprungs sollten als potentiell infektiös betrachtet werden, da keine Testmethode alle infektiösen Krankheitserreger nachweisen kann. Beim Umgang mit biologischen Materialien werden deshalb angemessene Sicherheitsvorkehrungen empfohlen (Nicht mit dem Mund pipettieren; Schutzhandschuhe bei der Testdurchführung tragen; Händedesinfektion nach der Testdurchführung).

Biologische Materialien müssen vor der Entsorgung inaktiviert werden (z.B. durch Autoklavieren). Einwegmaterialien sind nach Gebrauch zu autoklavieren oder zu verbrennen.

Verschüttetes potentiell infektiöses Material sollte unverzüglich mit einem saugfähigen Papiertuch entfernt werden und der kontaminierte Bereich mit einem geeigneten Desinfektionsmittel oder 70%igem Ethanol desinfiziert werden. Material, das für die Entfernung von Verschüttetem benutzt wurde, muss vor der Entsorgung inaktiviert werden (z.B. durch Autoklavieren).

Die Testreagenzien enthalten NaN_3 als Konservierungsmittel. In der in den Reagenzien enthaltenen Konzentration von $< 0,1\%$ gilt NaN_3 nicht mehr als gesundheitsschädlich, trotzdem sollte ein Kontakt mit der Haut und Schleimhäuten vermieden werden. Kupfer und Blei, die in einigen Rohrsystemen eingesetzt werden, können mit Azid explosive Salze bilden. Die in den Reagenzien enthaltenen Azidmengen sind klein, trotzdem sollte bei der Beseitigung von Azid-haltigem Material mit reichlich Wasser nachgespült werden.

Die Entsorgung aller Proben, ungebrauchter Reagenzien und Abfälle sollte entsprechend der Gesetzgebung des jeweiligen Landes und der regionalen Behörden erfolgen.

Ein Sicherheitsdatenblatt (SDS) kann unter www.bag-healthcare.com heruntergeladen werden.

11. Literatur

Richtlinie zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie); Aufgestellt vom wissenschaftlichen Beirat der Bundesärztekammer und vom Paul-Ehrlich-Institut, Fassung 2017

Immunhämatologie und Transfusionsmedizin, Reinhold Eckstein / Robert Zimmermann , 6. Auflage, Urban & Fischer bei Elsevier, 2010

Blutgruppen und Transfusion, M. Metaxas-Bühler, Verlag Hans Huber, 1994

| | |
|----------------------|---------------------------------|
| Gebrauchsinformation | Version: 2/2018 / Stand 2018-09 |
|----------------------|---------------------------------|



BAG Health Care GmbH
Amtsgerichtsstraße 1-5
35423 Lich/Germany

Tel.: +49(0) 6404/925-0 www.bag-healthcare.com
Fax: +49(0) 6404/925-250 info@bag-healthcare.com

Auftragsannahme/Ordering:
Tel.: +49(0) 6404/925-450
Fax: +49(0) 6404/925-460
verkauf@bag-healthcare.com

Customer Service:
Tel.: +49(0) 6404/925-125
Fax: +49(0) 6404/925-421
service@bag-healthcare.com

Anti-Le^a (Lewis^a)**Anti-Le^b (Lewis^b)****monoclonal (IgM)**Electronic Instructions for use see www.bag-healthcare.com

| Product | | Clone | REF |
|---------------------------------------|------|-------|-------|
| Anti-Le ^a monoclonal (IgM) | 5 ml | LEA2 | 67311 |
| Anti-Le ^b monoclonal (IgM) | 5 ml | LEB2 | 67321 |

FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE

1. Description of product

Anti-Le^a (clone **LEA2**) and Anti-Le^b (clone **LEB2**) are made from monoclonal mouse IgM antibodies. The clone numbers are given on the labels of the test reagents.

Anti-Le^a and Anti-Le^b monoclonal (IgM) aid for the detection of the corresponding antigens on human red blood cells and are suitable for the test tube procedure.

NaN₃ (< 0.1%) is added to the test reagents as a preservative.

2. Principle of the test

The testing method indicated is based on the principle of hemagglutination. Incubation of test red cells with the test reagent will result in a specific antigen-antibody reaction if the corresponding antigen is present on the test red cells. Visible detection of this reaction is demonstrated by agglutination of the cells. No agglutination indicates a negative test result, and within the accepted limitations of the test procedure, indicates the absence of the corresponding antigen.

3. Storage and stability

Store the test reagents at 2...8°C. Do not freeze! Allow the reagents to come to room temperature (< 20°C) before use and store again at 2...8°C after use.

Once they have been opened the first time, the test reagents may be used up to the expiration date indicated on the label if the specified storage conditions are observed and no signs of contamination are observed. Do not use the reagent after the expiry date printed on the label. Do not use contaminated reagents!

4. Preparation of samples

The blood samples should be collected by approved medical procedure. Blood samples with and without anticoagulants (EDTA, citrate) are suitable for testing. Do not use hemolytic samples! Testing should take place without delay whenever possible. If this is not possible, store blood samples at 2...8°C.

If red cells are stored for too long before testing, the red blood cell antigens may change, which can lead to weakened reactions (see 9. Important Notes/Limitations of the Method).

5. Additional materials required

0.9% NaCl solution (isotonic saline)
PBS (Phosphate-buffered saline), pH 6.8 – 7.2, or LISS
Test tubes (75 x 12 mm), especially of glass
Tube rack
Single-use Pasteur pipettes
Centrifuge
Red blood cells of known phenotype

6. Test procedure (Tube test)

1. Wash the red cells to be examined at least once in cold isotonic saline and then prepare a 2 – 3% suspension of test red cells in isotonic saline or PBS, pH 6.8 – 7.2 (alternative: prepare a 1.5 – 2% suspension of test red cells in LISS).
2. Mix 1 drop of monoclonal test reagent and 1 drop of the test red cell suspension in a labeled test tube and incubate at room temperature (< 20°C) for 10 - 15 minutes.
3. Centrifuge 1 minute at 400 x g (1500 rpm) or at an alternative rpm with an appropriate time adjustment.
4. Resuspend the cells by gently shaking the tube and examine macroscopically for agglutination.

Comments: Do not examine the test microscopically.
Red cells that are positive with regard to the respective antigen, and red cells that are negative with regard to the respective antigen, as well as a negative control for monoclonal test reagents and an auto-control to test for auto-agglutination must also be tested as controls. The determination of the antigens should be carried out with at least 2 different test reagents. When using two monoclonal test reagents, two different clones should be used, if possible.

7. Interpretation of the results

Agglutination of test red cells with the test reagent indicates the presence of the corresponding antigen (within the accepted limitations of the test procedure).

No agglutination of test red cells with the test reagent indicates the absence of the corresponding antigen (within the accepted limitations of the test procedure).

If no agglutination occurs with the test red cells known to be positive for the antigen or if agglutination occurs with the test red cells known to be negative for the antigen or with the negative control for monoclonal test reagents or with the auto-control the test results should not be interpreted. If different test results occur with two different test reagents, repeat the determination of the antigen with an other test method and/or an other test reagent.

Pay attention to the limitations of procedure and important directions (s. 9. Important notes/Limitations of the method).

8. Stability of reactions

All test results must be interpreted immediately once the test is performed.

9. Important notes/Limitations of the method

1. The test reagents are designed for in vitro diagnostic use only and should be used only by properly trained, qualified personnel.
2. The test reagents should not be used for the testing of enzyme-treated red cells.
3. Hemolytic samples should not be used.
4. The strength of positive reactions depends on the age of the used blood. This concerns in particular EDTA and native blood. Better results are achieved with freshly drawn blood samples.

5. Clone LEB2 has anti-Leb H specificity and react stronger with cells of group O phenotype. The clone react with A₁ and A₁B red cells but in some cases may exhibit a weaker reaction.
6. Umbilical cord red cells do not express sufficient Lewis antigen to be agglutinated by the test reagents. Therefore these cells are typed as Le (a-b-).
7. Light cloudiness does not influence the reactivity of the product.
8. In rare cases, spontaneous and non-specific agglutinations may occur with red cells coated with immunoglobulins in vivo. In such instances similar phenomena would most likely occur in blood grouping tests of other blood group systems as well. Therefore, as a control, a negative control for monoclonal test reagents and an autologous patient serum should always be tested as well. If the control tests also show a positive reaction, the result of the blood type determination cannot be interpreted.
9. Suspensions of unwashed red cells in plasma or serum promote false positive reactions such as those associated with rouleaux formation or autoantibodies. The use of well washed red cells can reduce the occurrence of such false positive reactions.
10. Soluble antigens that may be present in the serum/plasma of the patient can be adsorbed on the red cell surface, or they can neutralize antibodies targeted against the corresponding antigen. The use of well washed red cells can prevent the occurrence of such false positive reactions.
11. At a room temperature above 20°C both test reagents and test red cells should be cooled at 2...8°C before use.
12. Reading the results of the test too late, agitating the red cell sediment too strongly, and other deviations from the indicated testing procedure can lead to weaker or false negative results.
13. False negative results or unexpected weak reactions may be caused by storing the red cells for too long and/or under inappropriate conditions and/or by a cell concentration that is too low.
14. False negative or false positive results can result from inappropriate techniques, incorrect centrifugation or incubation, dirty tubes, incorrect pH of solutions and/or contaminated materials and samples.
15. Do not use mouse monoclonal reagents in direct antiglobulin tests with anti-human-globulin (AHG) reagents.
16. A microbial or chemical contamination of the test reagents must be absolutely avoided because this shortens the shelf life of the product and can lead to false results.
17. No single centrifugation speed or time can be recommended for all types of available centrifuges or test applications. Centrifuges should be calibrated individually to determine the optimal time and speed required to produce a clear supernatant and a clearly delineated red cell button that can be easily resuspended.
18. Deviation from the recommended Instructions for Use may result in less than optimal product performance. User-defined deviations such as modifications of test procedures, serum dilution for use in automat or cards, freezing of serum on microtiter plates etc. may require validation by the user.
19. Whether transfusions or transplantations have taken place should always be taken into consideration when interpreting the results. Any history of transfusions and/or transplantations, as well as the patient's medication history, should be taken into consideration when interpreting results.

10. Warnings and instructions for disposal

All used biological material should be handled as potentially infectious, because no test method can guarantee that material derived from biological sources are free from infectious agents. When handling biological material appropriate safety precautions are recommended (Do not pipette by mouth; wear disposable gloves while handling biological material and performing the test; disinfect hands when finished the test).

Biological material should be inactivated before disposal (e.g. in an autoclave). Disposables should be autoclaved or incinerated after use.

Spillage of potentially infectious materials should be removed immediately with absorbent paper tissue and the contaminated areas swabbed with a suitable standard disinfectant or 70% alcohol. Material used to clean spills, including gloves, should be inactivated before disposal (e.g. in an autoclave).

The test reagents contain NaN_3 as a preservative. The reagents contain $< 0.1\%$ NaN_3 which is not considered to be a harmful concentration. Nevertheless avoid contact with the skin and mucous membranes. The copper and lead used in some plumbing systems can react with azides to form explosive salts. The quantities of azide used in this reagent are small; nevertheless when disposing of azide-containing materials, they should be flushed away with a large volume of water.

Disposal of all samples, unused reagent and waste should be in accordance with country, federal, state and local regulations.

A Material Safety Data Sheet (MSDS) is available to download at www.bag-healthcare.com.

11. Bibliography

Issitt PD, Anstee DJ. Applied Blood Group Serology. 4th Edition. Montgomery Scientific. Durham SC. 1998













Technical manual of the American Association of Blood Banks, 18th ed., 2014

| | |
|----------------------|----------------------------------|
| Instructions for use | Version: 2/2018 / Issue: 2018-09 |
|----------------------|----------------------------------|

Instructions for use in other languages see:

<http://www.bag-healthcare.com/en/Diagnostika/Downloads/>

or phone +49 (0) 6404-925-125

| Erklärung der Symbole auf den Etiketten / Explanation of symbols used on Labelling | |
|---|---|
|  | In-vitro-Diagnostikum / <i>For in vitro diagnostic use</i> |
|  | Hersteller / <i>Manufacturer</i> |
|  | Lagertemperatur / Temperaturbegrenzung <i>Storage temperature / Temperature limitation</i> |
|  | Lot-Nr. / <i>Batch code</i> |
|  | Verwendbar bis / <i>Use by</i> |
|  | Bestell-Nr. / <i>Catalogue number</i> |
|  | Gebrauchsinformation beachten / <i>Consult instructions for use</i> |
|  | Monoklonal IgM / <i>Monoclonal IgM</i> |
|  | Klon / <i>Clone</i> |
|  | Ursprung: Maus / <i>Origin: murine</i> |
|  | Enthält Natriumazid / <i>Contains Natriumazide</i> |
|  | Titer / <i>Titer</i> |