

**Anti-Lea (Anti-LE1) (Monoclonal)**

**Anti-Leb (Anti-LE2) (Monoclonal)**

For Tube Test

FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE ONLY

**INTENDED USE**

Monoclonal agglutinating Anti-Lea und Anti-Leb-testsera are produced from cell culture

supernatants of hybridoma-cell lines. The cells are secreting antibodies of IgM-type, that

reacts specific with the corresponding antigen. The testsera are used to determine whether

red blood cells possess or lack the corresponding blood group antigen. The testsera are

intended to be used by qualified and technical personnel only.

**PRINCIPLE OF PROCEDURE**

The procedures used with this reagent 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 reagent is produced from following cell clone:

Anti-Lea agglutinating (monoclonal, clone 78FR2.3)

Anti-Lea agglutinating (monoclonal, clones LM 112/161)

Anti-Lea agglutinating (monoclonal, clones LEA2)

Anti-Leb agglutinating (monoclonal, clone 96FR2.10)

Anti-Leb agglutinating (monoklonal, Klon LM129/181)

Anti-Leb agglutinating (monoklonal, Klon LEB2)

The reagent contains <0.1% (w/v) sodium azide as preservative. Additionally the reagent is

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. These reagents contain sodium azide, that may be

toxic and may react with lead or copper to form highly explosive salts. Because of these

reasons the 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.

6. The procedures identified below are 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 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 vial.

**PROCEDURE**

Not provided material, additionally needed

**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**

**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 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 may react unspecific.

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))

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

**Анти-Lea (Anti-LE1) (Моноклональный)**

**Анти-Leb (Anti-LE2) (Моноклональный)**

Для работы в пробирке

Только для диагностика in vitro

**НАЗНАЧЕНИЕ**

Моноклональные агглютинирующие тест-сыворотки Анти-Lea и Анти-Leb изготовлены из надосадочных жидкостей клеточных линий гетерогибридомы. Клетки продуцируют антитела класса IgM, которые специфично взаимодействуют с соответствующими антигенами. Тест-сыворотка определяет наличие или отсутствие соответствующего антигена. 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. Затем эритроциты агглютинируют за счет других антител, которые взаимодействуют с молекулами человеческого IgG.

**РЕАГЕНТЫ**

Перечисленные реагенты содержат антитела следующих клеточных клонов:

Агглютинирующий Anti-Lea (моноклональный, клон 78FR2.3)

Агглютинирующий Anti-Lea (моноклональный, клон LM 112/161)

Агглютинирующий Anti-Lea (моноклональный, клон LEA2)

Агглютинирующий Anti-Leb (моноклональный, клон 96FR2.10)

Агглютинирующий Anti-Leb (моноклональный, клон LM129/181)

Агглютинирующий Anti-Leb (моноклональный, клон LEB2)

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 реагент должен 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.
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 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 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 центрифугирования 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. Из-за разной экспрессии эритроцитов действенность этих реагентов против определенных фенотипов может дать более слабую реакцию по сравнению с контрольными клетками.
5. 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 ложноположительные реакции.

ANTITOXIN GmbH

Industriestrasse 88

69245 Bammental

Deutschland

730-13-1206 Версия 006 / Август 2007