



MONOCLONAL REAGENZIEN ZUR BLUTGRUPPENBESTIMMUNG
GEBRAUCHSANWEISUNG

Anti-Le^a Monoclonal: Für die Röhren-, Bio-Rad-ID- und Ortho BioVue-Methoden.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Antigene des Lewis-Systems sind kein integraler Bestandteil der Membran der roten Blutkörperchen. Sie werden von Gewebezellen produziert und finden sich in erster Linie in Plasma und wässrigen Sekreten. Rote Blutkörperchen erwerben Lewis-Antigene durch Adsorption aus dem umgebenden Plasma. Die Anzahl der auf einer Zelle exprimierten Lewis-Antigene kann aufgrund des ABO-Phänotyps der Zelle variieren. Anti-Le^a wurde nicht mit der hämolytischen Krankheit beim Neugeborenen in Verbindung gebracht, aber Beispiele von Anti-Le^a haben hämolytische Transfusionsreaktionen verursacht.

Anti-Le ^a	Anti-Le ^b	Phänotyp	Weißer ¹	Afroamerikaner ¹
+	0	Le(a+b-)	22 %	23 %
0	+	Le(a-b+)	72 %	55 %
0	0	Le(a-b-)	6 %	22 %
+	+	Le(a+b+)	Selten	Selten

VERWENDUNGSZWECK

Dieses Reagens ist ein Reagens zur Blutgruppenbestimmung, das zur qualitativen Bestimmung des Vorhandenseins oder Nichtvorhandenseins von Le^a-Antigenen (LE1) auf den roten Blutkörperchen von Blutspendern oder auf eine Bluttransfusion angewiesenen Patienten herangezogen werden soll, wenn sie in Übereinstimmung mit den in dieser Gebrauchsanweisung angegebenen empfohlenen Methoden untersucht werden.

GRUNDSATZ

Das Reagens enthält Antikörper zum Le^a-Antigen auf den menschlichen roten Blutkörperchen und bewirkt nach der Zentrifugierung eine direkte Agglutination (Verklumpung) der roten Blutkörperchen, die das Le^a-Antigen tragen. Erfolgt keine Agglutination (keine Verklumpung), zeigt dies im Allgemeinen das Nichtvorhandensein des Le^a-Antigens an (siehe **Einschränkungen**).

REAGENZIEN

Das Reagens zur Blutgruppenbestimmung Lorne Monoclonal Anti-Le^a enthält monoklonale humane IgM-Antikörper aufgelöst in einem Phosphatpuffer, der Natriumchlorid, EDTA, Rinderalbumin und einen makromolekularen Verstärker (2,5 g%) enthält. Anti-Le^a wird mit Klon P3N20V3 hergestellt. Das Reagens enthält weder CMR-Stoffe oder Stoffe mit endokriner Wirkung oder Stoffe, die beim Benutzer zu einer Sensibilisierung oder einer allergischen Reaktion führen könnten, noch besteht es aus solchen Stoffen. Das Reagens wird mit der optimalen Verdünnung zur Verwendung mit allen unten angegebenen empfohlenen Methoden geliefert, ohne dass es weiter verdünnt werden muss oder ihm etwas hinzugefügt werden muss. Die Los-Referenznummer und das Ablaufdatum befinden sich auf dem **Etikett der Epruvette**.

LAGERUNG

Epruvetten mit Reagenzien sollten bei Erhalt bei 2 - 8 °C gelagert werden. Eine längere Lagerung bei Temperaturen außerhalb dieses Bereichs kann zu einem beschleunigten Verlust der Reaktionsfähigkeit des Reagens führen. Dieses Reagens wurde Transportstabilitätsstudien bei 37 °C und -25 °C unterzogen, wie sie im Dokument BS EN ISO 23640:2015 beschrieben werden.

PROBENNAHME UND VORBEREITUNG

Blutproben können mit den Antikoagulanzen EDTA, Citrat, CPDA oder als geronnene Blutprobe genommen werden. Die Proben sollten nach der Entnahme so schnell wie möglich untersucht werden. Kommt es bei der Untersuchung zu einer Verzögerung, sind die Proben bei 2-8 °C aufzubewahren. Proben mit einer ausgeprägten Hämolyse oder einer mikrobiellen Kontamination sollten nicht für Untersuchungen eingesetzt werden. Blutproben, die auf eine Lyse hinweisen, können unzuverlässige Ergebnisse liefern. Es ist wichtig (siehe den Abschnitt „Einschränkungen“), alle Blutproben vor der Untersuchung mit PBS oder isotonomischer Kochsalzlösung zu waschen.

VORSICHTSMASSNAHMEN

- Die Reagenzien sind nur zur Verwendung bei der *In-vitro*-Diagnostik vorgesehen.
- Weist eine Epruvette mit einem Reagens Risse auf oder leckt sie, sind die Inhalte unverzüglich zu entsorgen.
- Die Reagenzien nicht nach dem Ablaufdatum verwenden (siehe **Etikett der Epruvette**).
- Die Reagenzien nicht verwenden, wenn ein Niederschlag vorhanden ist.
- Bei der Handhabung der Reagenzien ist Schutzkleidung wie Einmalhandschuhe und ein Laborkittel zu tragen.
- Die Reagenzien wurden zur Reduzierung der Keimbelastung durch eine 0,2 µm-Kapsel gefiltert, werden jedoch nicht steril geliefert. Nach erfolgter Öffnung einer Epruvette sollten die Inhalte bis zum Ablaufdatum brauchbar sein, solange keine ausgeprägte Trübung vorliegt, die auf eine Verschlechterung oder Kontamination des Reagens hinweisen kann.

- Die Reagenzien enthalten < 0,1 % Natriumazid. Natriumazid kann bei Verschlucken giftig sein und kann mit Abflussrohren aus Blei und Kupfer reagieren und explosive Metallazide bilden. Beim Entsorgen mit großen Mengen Wasser wegspülen.
- Von den bekannten Tests kann keiner garantieren, dass die aus menschlichen oder tierischen Quellen abgeleiteten Produkte frei von Infektionserregern sind. Bei der Verwendung und Entsorgung einer jeden Epruvette und ihrer Inhalte ist mit Vorsicht vorzugehen.

ENTSORGUNG DES REAGENS UND UMGANG MIT VERSCHÜTTUNGEN

Für Informationen zur Entsorgung des Reagens und der Dekontaminierung bei Verschüttungen siehe die **Sicherheitsdatenblätter**, die auf Anfrage verfügbar sind.

KONTROLLEN UND RAT

- Es wird empfohlen, dass mit jeder Testserie parallel eine positive und eine negative Kontrolle getestet werden. Zeigen die Kontrollen nicht die erwarteten Ergebnisse, sind die Tests als ungültig zu betrachten.
- Bei der Typisierung roter Zellen von einem Patienten, bei dem eine Erkrankung diagnostiziert wird, durch die die roten Blutkörperchen mit Antikörpern oder anderen Proteinen überzogen werden (zum Beispiel HDN, AIHA), ist es wichtig, die roten Blutkörperchen des Patienten mit der negativen Reagenzkontrolle von Lorne zu testen (Monoclonal Rh Control (Katalog 640010)).
- Das Reagens vor der Verwendung auf Raumtemperatur aufwärmen lassen. Nach Verwendung des Reagens das Reagens wieder bei 2-8 °C lagern.
- Bei der **Röhrenmethode** beträgt ein Volumen ungefähr 50 µl, wenn der mitgelieferte Tropfer der Epruvette verwendet wird.
- Die Verwendung des Reagens und die Interpretation der Ergebnisse muss von ordnungsgemäß geschultem und qualifiziertem Personal in Übereinstimmung mit den Anforderungen des Landes, in dem das Reagens verwendet wird, durchgeführt werden.
- Der Benutzer muss bestimmen, ob sich das Reagens zur Verwendung bei anderen Methoden eignet.

ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERT REAGENZIEN UND MATERIALIEN

Röhrenmethode

- Glas-Teströhrchen (10 x 75 mm oder 12 x 75 mm).
- Zentrifuge, die sich bei 1000 g 20 Sekunden lang drehen kann.
- PBS-Lösung (pH 6,8–7,2) oder isotomische Kochsalzlösung (pH 6,5–7,5).
- Le(a+) positive und Le(a-) negative Kontrollzellen.

Bio-Rad-ID-Micro-Typisierungsmethode

- Bio-Rad-ID-Karten (NaCl, Enzymtests und Kälteagglutinine).
- Bio-Rad-ID-Zentrifuge.
- Bio-Rad ID-CellStab oder ID-Diluent 2.

Ortho BioVue-Typisierungsmethode

- Ortho BioVue-Systemkassetten (Neutral).
- Ortho BioVue-System-Zentrifuge.
- Ortho 0.8% Red Cell Diluent.

Alle Methoden

- Vollpipetten.

EMPFOHLENE METHODEN

A. Röhrenmethode

- Eine 2-3%-ige Suspension gewaschener roter Blutkörperchen in PBS oder isotonomischer Kochsalzlösung erstellen.
- In ein gekennzeichnetes Teströhrchen geben: 1 Volumen Lorne Lewis-Reagens und 1 Volumen rote Blutkörperchen-Suspension.
- Gründlich mischen und 15 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren.
- Alle Röhrchen 20 Sekunden lang bei 1000 rcf oder für einen geeigneten alternativen Zeitraum und mit geeigneter Kraft zentrifugieren.
- Den Zellknopf aus roten Blutkörperchen sanft resuspendieren und makroskopisch auf die Agglutination hin ablesen

B. Bio-Rad-ID-Micro-Typisierungsmethode

- Eine 0,8%-ige Suspension gewaschener roter Blutkörperchen in ID-CellStab oder ID-Diluent 2 erstellen.
- Die Aluminiumfolie von so vielen Mikroröhrchen auf der NaCl-/Enzym-/Kälteagglutinine-ID-Card wie notwendig entfernen.
- In ein geeignetes Mikroröhrchen geben: 50 µl rote Blutkörperchen-Suspension 0,8 % und 25 µl Reagens von Lorne.
- Die ID-Karte(n) 15 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren.

- Die ID-Karte(n) in einer Bio-Rad-ID-Zentrifuge zentrifugieren.
- Makroskopisch auf die Agglutination hin ablesen.

C. Ortho BioVue-Typisierungsmethode

- Eine 0,8%-ige Suspension von gewaschener roter Blutkörperchen in 0,8 % Ortho Red Cell Diluent erstellen.
- Aluminiumfolie von so vielen Reaktionskammern auf der Neutral-Kassette wie notwendig entfernen.
- In eine geeignete Reaktionskammer geben: 50 µl rote Blutkörperchen-Suspension und 40 µl Reagens von Lorne.
- Die Kassette(n) 15 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren.
- Die Kassette(n) in einer Ortho BioVue-System-Zentrifuge zentrifugieren.
- Makroskopisch auf die Agglutination hin ablesen.

INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

1. **Positiv:** Eine Agglutination der roten Blutkörperchen stellt ein positives Testergebnis dar und zeigt innerhalb zulässiger Einschränkungen des Testverfahrens das Vorhandensein des Lea-Antigens auf den roten Blutkörperchen an.

2. **Negativ:** Eine nicht vorhandene Agglutination der roten Blutkörperchen stellt ein negatives Testergebnis dar und zeigt innerhalb der zulässigen Einschränkungen des Testverfahrens das Nichtvorhandensein des Lea-Antigens auf den roten Blutkörperchen an.

3. **Kontrolle:** Testergebnisse von Zellen, die anhand der negativen Reagenzkontrolle agglutiniert werden, werden ausgeschlossen, da die Agglutination höchstwahrscheinlich aufgrund der Wirkung der makromolekularen Verstärker im Reagens auf den sensibilisierten Zellen hervorgerufen wurde.

STABILITÄT DER REAKTIONEN

- Die Röhrchentests sollten unmittelbar nach der Zentrifugierung abgelesen werden. Verzögerungen können zur Dissoziation der Antigen-Antikörper-Komplexe führen und falsch negative oder schwach positive Reaktionen mit sich bringen.
- Bei der Interpretation von Ergebnissen von Untersuchungen, die bei anderen Temperaturen als den empfohlenen durchgeführt wurden, ist Vorsicht angebracht.

EINSCHRÄNKUNGEN

- Die Reagenzien Lorne Lewis dürfen nur mit gewaschenen, in physiologischer Kochsalzlösung suspendierten roten Blutkörperchen verwendet werden, weil im Plasma Lewis-Antigene vorhanden sind. In Plasma/Serum suspendierte Zellen **können nicht** verwendet werden, da das vorhandene lösliche Antigen das Testreagens neutralisieren und falsch negative Ergebnisse anzeigen kann.
- Es werden die Zellen der meisten Neugeborenen mit monoklonalen oder humanen Anti-Lewis-Reagenzien als Le(a-b-) typisiert, obwohl einige Proben in direkten Coombs-Tests mit monoklonalem Maus-Anti-Le^a schwach positive Reaktionen produzieren werden.
- Die Lewis-Phänotypen von Kindern unter sechs Jahren können nicht genau bestimmt werden. Lewis-Antigene der roten Blutkörperchen sind während der Schwangerschaft schwächer.
- Gelagertes Blut kann schwächere Reaktionen erzeugen als frisches Blut
- Falsch positive oder falsch negative Ergebnisse können auch auftreten aufgrund von:
 - Kontamination von Testmaterialien
 - Ungeeigneter Lagerung, Zellkonzentration, Inkubationszeit oder Temperatur
 - Unsachgemäßer oder übermäßiger Zentrifugierung
 - Abweichung von den empfohlenen Methoden

BESTIMMTE LEISTUNGSMERKMALE

- Vor der Freigabe wurden alle Lose mit Reagenzien anhand der in dieser Gebrauchsanweisung aufgeführten empfohlenen Testverfahren getestet. Die Tests erfüllten die Testanforderungen, wie sie in der aktuellen Version/Ausgabe der „Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom“ angegeben werden.
- Die Spezifität der monoklonalen Antikörper der Quelle wird anhand eines Panels mit Antigen-negativen Zellen unter Beweis gestellt.
- Die Qualitätskontrolle der Reagenzien erfolgte anhand von roten Blutkörperchen mit Phänotypen, die von einem Bluttransfusionszentrum im Vereinigten Königreich verifiziert wurden und vor der Verwendung mit PBS oder isotonomischer Kochsalzlösung gewaschen worden waren.

HAFTUNGSAUSSCHLUSS

- Für das Leistungsverhalten der Reagenzien nach einem anderen Verfahren als den in der **empfohlenen Methoden** erwähnten ist der Benutzer verantwortlich.
- Alle Abweichungen von der **empfohlenen Methoden** sollten vor der Verwendung validiert werden⁵.

BIBLIOGRAPHIE

- Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Seite 189.
- Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3. Ausgabe. Montgomery Scientific, Miami 1985; Kapitel 7.
- AABB Technical Manual, 16. Ausgabe, AABB 2008.

- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6. Ausgabe 2002. The Stationary Office.
- British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force. Recommendations for evaluation, validation and implementation of new techniques for blood grouping, antibody screening and cross matching. Transfusion Medicine, 1995, 5, 145-150.

VERFÜGBARE GRÖSSEN DER REAGENZIEN

	Größe der Epruvette	Katalognummer	Tests je Epruvette
Anti-Le ^a Monoclonal	2 ml	632002	40
	1000 ml	632000*	20.000

*Diese Größe ist nur zur weiteren Verwendung in der Herstellung (FFMU) vorgesehen und trägt daher keine CE-Kennzeichnung.



Lorne Laboratories Limited
Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate
Danehill
Lower Earley
Berkshire, RG6 4UT
Vereinigtes Königreich
Tel: +44 (0) 118 921 2264
Fax: +44 (0) 118 986 4518
E-Mail: info@lornelabs.com



Advena Ltd. Tower Business Centre, 2nd Flr.,
Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta