



**Solutions**

## CERTIFICATE OF REGISTRATION

### Lorne Laboratories Ltd

Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate  
Danehill  
Lower Earley  
Berkshire RG6 4UT UNITED KINGDOM

UL LLC® (UL Solutions) issues this certificate to the Firm named above, after assessing the Firm's quality system and finding it in compliance with:

**ISO 13485:2016**

**EN ISO 13485:2016**

The design and manufacture of in vitro diagnostic blood grouping reagents. The purchase for resale of in vitro diagnostic serology test kits.



Authorized by

**Paul Hilgeman**  
**Senior Business Manager - Medical**  
CMIT – Medical Regulatory



Check Certificate Status:  
[here](#)

File Number A12241  
Certificate Number 1458.230523  
Initial Issue Date June 26, 2018

Cycle Start May 23, 2023  
Effective Date May 23, 2023  
Expiry Date May 22, 2026

This quality system registration is included in UL's Directory of Registered Firms and applies to the provision of goods and/or services as specified in the scope of registration from the address(es) shown above. By issuance of this certificate the firm represents that it will maintain its registration in accordance with the applicable requirements. This certificate is not transferable and remains the property of UL LLC® (UL Solutions).





# CERTIFICATE

**EC Certificate No. 1434-IVDD-074/2022**

**EC Design-examination  
Directive 98/79/EC concerning  
*in vitro* diagnostic medical devices**

Polish Centre for Testing and Certification certifies  
that manufactured by:

**Lorne Laboratories Ltd  
Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate  
Danehill  
Lower Earley  
Berkshire RG6 4UT, UNITED KINGDOM**

i.e. *in vitro* diagnostic medical devices  
List A

*The list of medical devices covered by this certificate is provided in the Annex 1*

in terms of design documentation, comply with requirements  
of Annex IV (Section 4) to Directive 98/79/EC (as amended)  
implemented into Polish law,  
as evidenced by the audit conducted by the PCBC

Validity of the Certificate: From 28.04.2022 to 27.05.2025

The date of issue of the Certificate: 28.04.2022

The date of the first issue of the Certificate: 10.04.2019



Issued under the Contract No. MD-004/2022  
Application No: 504/2022  
Certificate bears the qualified signature.  
Warsaw, 28/04/2022  
Module H6/V1

Aleksandra  
Kostrzewa

Digitally signed by  
Aleksandra  
Kostrzewa

**President**



## ANNEX 1 TO THE CERTIFICATE

VALID ONLY WITH CERTIFICATE

**No 1434-IVDD-074/2022**

*List of medical devices covered by the certificate:*

Anti-A Monoclonal 600010  
Anti-B Monoclonal 610010  
Anti-A,B Monoclonal 620010  
Anti-D Clone 1 Monoclonal 730010  
Anti-D Clone 2 Monoclonal 710010  
Anti-D Duoclone Monoclonal 740010  
Anti-C Monoclonal 690005  
Anti-E Monoclonal 691005  
Anti-c Monoclonal 692005  
Anti-e Monoclonal 693005  
Anti-C+D+E Monoclonal 700010  
Anti-K Monoclonal 760010



Issued under the Contract No. MD-004/2022  
Application No: 504/2022  
Certificate bears the qualified signature.  
Warsaw, 28/04/2022

Aleksandra  
Kostrzewa  
**President**

Digitally signed by  
Aleksandra  
Kostrzewa



# CERTIFICATE

**EC Certificate No. 1434-IVDD-075/2022**

**Full Quality Assurance System  
Directive 98/79/EC concerning  
*in vitro* diagnostic medical devices**

Polish Centre for Testing and Certification certifies  
that the quality assurance system in the organization:

**Lorne Laboratories Ltd**  
**Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate**  
**Danehill**  
**Lower Earley**  
**Berkshire RG6 4UT, UNITED KINGDOM**

for the design, manufacture and final inspection of *in vitro* diagnostic medical device  
List A

*The list of medical devices covered by this certificate is provided  
in the Annex 1 to EC Design-examination Certificate No. 1434-IVDD-074/2022*

complies with requirements  
of Annex IV (excluding Section 4, 6) to Directive 98/79/EC (as amended)  
implemented into Polish law,  
as evidenced by the audit conducted by the PCBC

Validity of the Certificate: from 28.04.2022 to 27.05.2025

The date of issue of the Certificate: 28.04.2022

The date of the first issue of the Certificate: 10.04.2019



Issued under the Contract No. MD-004/2022  
Application No: 505/2022  
Certificate bears the qualified signature.  
Warsaw, 28/04/2022  
Module H7

Aleksandra Kostrzewa  
Digitally signed by  
Aleksandra  
Kostrzewa  
President





**REAGENȚI PENTRU DETERMINAREA GRUPELOR SANGVINE # referință a documentului CEPI690/691/692/693**

**APLICAȚIILE.** Reagentul Anti-C, anti-E, anti-c și anti-e: pentru tehnicile în tub, DiaMed-ID, Ortho BioVue, Microplăci + Slide-uri

**SUMAR**

Levine și Stetson au descoperit sistemul de sânge Rh în 1940. Separat de D, celelalte antigene majore sunt C, E, c și e. Antigenul D posedă imunogenicitate înaltă; antigenele C și e sunt mai puțin imunogenice decât E și c. Anticorpilor corespunzători posedă semnificație clinică deoarece pot provoca reacții hemolitice de transfuzie, dar și în Boala Hemolitică a Nou-Născuților.

**Tabelul 1: frecvențele antigenelor în populația Caucasiană**

Antigenele Rh principale

| D  | C  | E  | c  | e  |
|----|----|----|----|----|
| 85 | 70 | 30 | 80 | 98 |

**PRINCIPII**

Reagenții vor cauza aglutinarea directă (agregarea) a celulelor roșii testate, care poartă antigenul Rh corespunzător. Lipsa aglutinării în general indică asupra absenței antigenului Rh corespunzător (a se vedea **Limitările**).

**REAGENȚII**

Reagenții pentru determinarea grupelor sangvine Monoclonal IgM Anti-Rh de la LORNE reprezintă reagenți de proteine minore, ce conțin anticorpilor umani monoclonali diluate în soluția de clorură de sodiu (0,9 g%) ce conține potențiatori macromoleculari și albumina bovină (6g%). Fiecare din reagenți este în diluție optimă pentru utilizare în toate tehnicile recomandate, menționate mai jos, fără necesitatea de diluții ulterioare sau adaosuri. Pentru identificarea numărului Lotului și a termenului de expirare a se vedea **Eticheta Flaconului**.

**Tabelul 2: Liniile celulare/clonile umane IgG utilizate**

| Reagent | Cell Line / Clone |
|---------|-------------------|
| Anti-C  | MS-24             |
| Anti-E  | MS-258            |
| Anti-c  | MS-33             |
| Anti-e  | MS-16 + MS-63     |

**CONDIȚII DE PĂSTRARE**

Flacoanele cu reagenți trebuie să fie păstrate la 2 - 8°C la primire. Păstrarea îndelungată la o altă temperatură decât cea menționată poate duce la pierderea rapidă a reactivității reagentului. Acest reagent a fost testat la condiții de transportare +37°C și -25°C, precum menționat în documentul EN13640:2002.

**COLECTAREA ȘI PREPARAREA PROBELOR**

Probele de sânge colectate cu sau fără anticoagulant pot fi utilizate pentru tiparea antigenului. Dacă testarea se face mai târziu, atunci probele se stochează la 2-8°C. Probele cu EDTA și citrat trebuie să fie testate în timp de 35 zile după colectare. Probele colectate ACD, CPD, CPDA-1 poate fi testat timp de până la 35 zile din data colectării. Toate probele de sânge trebuie să fie spălate cel puțin două ori cu PBS sau soluție izotonică salină înainte de testare. Probele de sânge care prezintă liza pot manifesta rezultate dubioase.

**PRECAUȚII**

1. Reagenții sunt destinați doar pentru diagnosticul *in vitro*.
2. Dacă flaconul cu reagent este stricat, ne ermetic închis, acesta trebuie să fie aruncat imediat.

3. Nu utilizați reagenții cu termenul expirat (a se vedea pe **Eticheta Flaconului**).
4. Nu utilizați reagenții dacă este prezent precipitatul.
5. Purtați haine de protecție în timpul utilizării reagenților, precum mănuși și halat.
6. Reagenții au fost filtrați prin filtre de 0,2 μ, pentru a înlătura pericolul biologic. Astfel, odată ce flaconul a fost deschis, conținutul poate fi utilizat până la sfârșitul termenului de expirare, dacă nu este prezentă careva turbiditate în flacon, care poate indica asupra prezenței deteriorării sau contaminării.
7. Reagentul conține <0,1% de azid de sodiu. Acesta poate fi toxic la ingerare și poate reacționa cu cupru și staniu plumbuit și forma azide de metale cu efect exploziv. La expunere, spălați abundent cu apă.
8. Materialele utilizate pentru producerea reagenților au fost testate pentru a fi negativi la anticorpilor HIV 1+2, HCV și HBsAg prin metodici microbiologice aprobate.
9. Nici o metodică de testare cunoscută nu poate garanta lipsa agenților infecțioși în produsele derivate din material de origine umană sau biologică. Atenție se ia la utilizarea și distrugerea fiecărui flacon și a conținutului acestuia.

**PROCEDURI DE DISTRUGERE A REAGENTULUI ȘI DE PROTECȚIE ÎN CAZUL SCURGERII**

Pentru informarea referitor la proceduri de distrugere și decontaminare a locului de scurgere, a se vedea Broșurile cu Date referitor la Siguranța Materialului (Material Safety Data Sheets).

**CONTROALE ȘI SFATURI**

1. Se recomandă utilizarea în paralel a controalelor pozitiv (ideal celulele heterozigote) și cel negativ la efectuarea testării fiecărui set de probe. Testele trebuie să fie considerat invalid dacă toate controalele nu prezintă rezultatele așteptate.
2. La tiparea celulelor roșii a unui pacient, este important ca să fie inclus reagentul control negativ (Mono Rh Control, Lorne cat. # 640010), deoarece sunt prezenți potențiatori macromoleculari ce poate cauza reacții fals pozitive cu celulele acoperite cu IgG.
3. Antigenele Rhesus cu manifestare slabă pot fi greu detectate prin tehnica gel card, plăcii de microtitrare și slide-ului. Se recomandă ca aceste să fie testate prin tehnica testării în tub.
4. La compartimentul Tehnicile Recomandate, un volum se consideră de cca 50 μl la utilizarea flaconului cu pipetă oferit.
5. Utilizarea reagenților și interpretarea rezultatelor trebuie să fie efectuată de personal antrenat și calificat în concordanță cu cerințele țării unde acești reagenți se folosesc. Utilizatorul trebuie să determine utilitatea reagentului în alte tehnici decât cele menționate.

**REAGENȚI ȘI MATERIALE NECESARE**

- Bețișoare de aplicare.
- Cititor de plăci automat.

- ID-Carduri DiaMed (Neutre).
- ID-Centrifugea DiaMed
- DiaMed ID-CellStab.
- Lame microscopice de sticlă.
- Tuburi de testare din sticlă (10 x 75 mm or 12 x 75 mm).
- Centrifuga pentru microplăci.
- Casete Ortho BioVue System (Neutre).
- Centrifuga Ortho BioVue System.
- Diluent pentru celule roșii Ortho 0,8%.
- Șeicher pentru plăci.
- Soluția PBS (pH 6,8-7,2) sau soluția salină izotonică (pH 6,5-7,5)
- Control de celule roșii pozitiv și negativ:
  - Monoclonal Anti-C: R1r (control pozitiv) and rr (control negative).
  - Monoclonal Anti-E: R2r (control pozitiv) and rr (control negative).
  - Monoclonal Anti-c: R1r (control pozitiv) and R1R1 (control negative).
  - Monoclonal Anti-e: R2r (control pozitiv) and R2R2 (control negative).
- Centrifuga pentru tuburi de testare.
- Microplăci cu godeurile "U" validate.
- Pipete volumetrice.

## TEHNICILE RECOMANDATE

### A. Tehnica în Tub

1. Preparati o suspensie de celule roșii spălate 2-3% în PBS sau soluție izotonică salină
2. Adăugați în tubul marcat pentru testare: 1 volum de reagent Lorne Anti-Rh și 1 volum de suspensie de celule roșii de testare.
3. Amestecați minuțios și centrifugați toate tuburile timp de 20 sec la 1000 RCF sau utilizați alți parametri corespunzători de timp și viteză de centrifugare.
4. Resuspendați atent conglomeratul de celule roșii și citiți aglutinarea macroscopic.
5. Orice tub, care manifestă o reacție negativă sau dubioasă, trebuie să fie incubate pentru 15 min la temperatura camerei.
6. Urmează incubarea și se repetă etapele 3 și 4.

### B. Tehnica de Microtipare DiaMed-ID

1. Prepararea suspensiei de 0,8% a celulelor roșii spălate în ID-Cellstab.
2. Înlăturați folia de aluminiu de pe tuburi.
3. Plasați în tuburile corespunzătoare: 50μl de soluție suspensie celule roșii de testare și 25μl de reagent Lorne Anti-Rh.
4. Centrifugați ID-Card-urile în centrifuga Diamed ID.
5. Citiți rezultatul aglutinării macroscopic.

### C. Tehnica de tipare Ortho BioVue

1. Prepararea suspensiei de 0,8% a celulelor roșii spălate în Ortho Red Cell Diluent.
2. Înlăturați folia de aluminiu de pe tuburi.
3. Plasați în camera de reacție corespunzătoare: 50μl de suspensie de celule roșii și 40μl de reagent Lorne Anti-Rh.
4. Centrifugați casetele timp de 5 minute în centrifuga Ortho BioVue System.
5. Citiți rezultatul aglutinării macroscopic.

### D. Tehnica în Microplacă, cu godeurile "U"

1. Preparati o suspensie de celule roșii spălate 2-3% în PBS sau soluție izotonică salină
2. Adăugați în tubul marcat pentru testare: 1 volum de reagent Lorne Anti-Rh și 1 volum de suspensie de celule roșii de testare.

3. Amestecați minuțios, preferabil cu ajutorul unui sheicher pentru microplăci, cu precauție evitând cross-contaminarea între godeuri.
4. Incubați la temperatura camerei pentru 15 minute (timpul dependent de utilizator)
5. Centrifugați microplaca timp de 1 minut la 140 RCF sau utilizați alți parametri corespunzători de timp și viteză de centrifugare.
6. Resuspendați atent conglomeratul de celule roșii utilizând aglutinarea controlată pe un șeicher de microplăci.
7. Citiți rezultatul macroscopic sau cu ajutorul unui cititor automat.
8. Orice tub, care manifestă o reacție slabă trebuie să fie repetate prin tehnica de tub.

### E. Tehnica de slide-uri

1. Preparati o suspensie de celule roșii pentru testare 35-45% în ser, plasma și PBS sau soluție izotonică.
2. Plasați în tuburile corespunzătoare: 1 volum de soluție suspensie celule roșii de testare și 1 volum de reagent Lorne Anti-Rh.
3. Utilizând un bețișor de aplicare curat amestecați reagentul și celulele, repartizând pe o suprafață de cca 20X40 cm.
4. Încet răsturnați lama înainte - înapoi timp de 30 sec, cu amestecare ulterioară peste fiecare 2 minute, menținând lama la temperatura camerei.
5. Citiți rezultatul macroscopic peste 2 minute prin lumina difuză; nu confundați fibrele de fibrină cu aglutinarea.
6. Orice reacție slabă trebuie să fie repetată prin tehnica în tub.

## INTERPRETAREA REZULTATELOR TESTULUI

1. Pozitiv: aglutinarea celulelor roșii testate constituie rezultatul pozitiv al testării în limitele acceptate a procedurii de testare și indică prezența antigenului Rh corespunzător de pe celulele roșii de testare.
2. Negativ: lipsa aglutinării celulelor roșii de testare constituie rezultatul negativ și în limitele acceptate a procedurii de testare și indică asupra absenței antigenului Rh corespunzător de pe celulele roșii de testare.
3. Rezultatele testării celulelor care au aglutinat utilizând reagentul pentru controlul negativ trebuie să fie excluse, deoarece aglutinarea e probabil că este cauzată de efectul potențiatorilor macromoleculari de pe celulele sensibilizate.

## STABILITATEA REACȚIILOR

1. Citiți rezultatele tuturor tuburi și microplăci după centrifugare.
2. Testele pe slide-uri trebuie să fie interpretate timp de 2 minute pentru asigurarea specificității și evitării posibilității rezultatului negativ, ce poate fi interpretat incorect ca unul pozitiv, datorită uscării reagentului.
3. Precauția trebuie să fie luată în interpretarea rezultatelor testului realizat la temperaturile altele decât cele recomandate.

## LIMITĂRILE

1. Reagentul Anti-Rh nu este potrivit pentru utilizare cu celulele tratate enzimatic sau pentru utilizare în tehnica antiglobulinică indirectă.
2. Mulți anticorpi anti-Rh IgM monoclonali umani posedă activitate aglutininică anti i/I la rece, în special cu celulele cordului sau cele tratate enzimatic. Aceasta poate deveni evident dacă testele au fost incubate la temperaturile mai mici decât cele recomandate.
3. Unele celule roșii expresează antigenele Rh variante și pot da reacții mai slabe decât observate cu celulele de control

pozitiv selectate randomizat. Anti-C poate da reacții mai slabe cu antigenul C a indivizilor  $R_2R_z$ . Similar, Anti-e poate da reacții puțin mai slabe în absența antigenului C, de ex., în cazul  $R_2r$ ,  $r''r$  și  $rr$ .

4. Expresia supresată sau diminuată a antigenelor de anumită grupă sanguină pot advers să majoreze numărul de rezultate fals negative și astfel trebuie să fie luate precauții la asocierea genotipului în baza rezultatelor de testare.
5. Rezultatele fals pozitive și fals negative pot apărea datorită:
  - contaminarea materialului de testare
  - păstrarea incorectă, concentrația celulară, timpul de incubare sau temperatura
  - centrifugarea incorectă sau excesivă.
  - abateri de la tehnica recomandată.

#### CARACTERISTICILE PERFORMANTELOR SPECIFICE

1. reagenții au fost caracterizați prin procedurile menționate în Tehnici Recomandate.
2. Înaintea eliberării, fiecare lot a reagentului monoclonal Anti-C, Anti-E, Anti-c și Anti-e LORNE este testat prin Tehnicile Recomandate contra panelului de celule roșii antigen pozitive pentru asigurarea reactivității corespunzătoare.
3. Specificitatea a anticorpilor monoclonali se demonstrează utilizând panelul de celule antigen negative.
4. Controlul Calității a reagenților a fost realizat prin utilizarea celulelor roșii care au fost spălate dublu cu PBS sau soluție salină izotonică înainte de utilizare
5. Reagenții corepsund cu recomandările incluse în ultima ediție a Ghidului pentru Serviciile de Transfuzie a Sângelui din Marea Britanie.

#### ACT DE RENUNȚATE (DISCLAIMER)

1. Utilizatorul este responsabil de performanța reagenților fiind utilizate prin alte metode decât cele menționate în Tehnicile Recomandate.
2. Orice deviere de la Tehnicile Recomandate trebuie să fie validată înainte de utilizare.

#### BIBLIOGRAFIE

1. Kholer G, Milstein C. Continuous culture of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature 1975, 256, 495-497.
2. Race RR, Sanger R. Blood Groups in Man 6th Edition, Oxford, Blackwell Scientific Publishers 1975, Chapter 2.
3. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition, Montgomery Scientific, Miami, 1985, Chapter 10.
4. Mollison PL. Blood Transfusion in Clinical Medicine, 8th Edition, Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1987, Chapter 7.
5. Tippett P. Sub-divisions of the Rh (D) antigen. Medical. Laboratory Science 1988; 45, 88-93
6. Thompson KM, Hughes-Jones NC. Production and characteristics of monoclonal anti-Rh. Bailliere's Clinical Haematology 1990; April
7. Jones J, Scott ML, Voak D. Monoclonal anti-D specificity and Rh D structure: criteria for selection of monoclonal anti-D reagents for routine typing of patients and donors. Transfusion Medicine 1995. 5, 171-184
8. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. H.M.S.O. Current Edition.
9. 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.

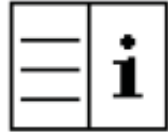
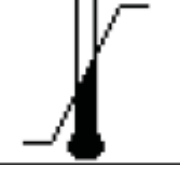
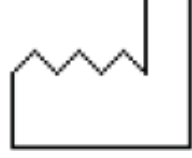
#### AMBALAJUL OFERIT

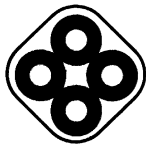
|                   | Volumul<br>flaconului | Număr de<br>catalog |
|-------------------|-----------------------|---------------------|
| Anti-C Monoclonal | 5 ml                  | 690005              |
|                   | 1000 ml               | 690000*             |
| Anti-E Monoclonal | 5 ml                  | 691005              |
|                   | 1000 ml               | 691000*             |
| Anti-c Monoclonal | 5 ml                  | 692005              |
|                   | 1000 ml               | 692000*             |
| Anti-e Monoclonal | 5 ml                  | 693005              |
|                   | 1000 ml               | 693000*             |

\* Acest format este doar pentru utilizare în producere și astfel nu este cu marcajul CE.

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

#### TABELUL DE SIMBOLURI

|                                                                                      |                                                     |
|--------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
|  | Numărul producerii<br>BATCH NUMBER                  |
|   | Referința în catalog<br>CATALOG REFERENCE           |
|   | Data de expirare<br>EXPIRY DATE                     |
|   | A se citi manualul de utilizare<br>READ PACK INSERT |
|  | Diagnosticarea in vitro<br>IN-VITRO DIAGNOSTICS     |
|  | A se păstra la<br>STORE AT                          |
|  | Producătorul<br>MANUFACTURER                        |



## BLOOD GROUPING REAGENTS DIRECTIONS FOR USE

### Anti-C, Anti-E, Anti-c and Anti-e Monoclonal: For Tube, Bio-Rad-ID, Ortho BioVue, Microplate + Slide Techniques.

#### SUMMARY

Levine and Stetson discovered the Rh blood group system in 1940. Apart from D the other major Rh antigens are C, E, c and e. The D antigen is highly immunogenic; the C and e antigens are less immunogenic than E and c. The corresponding antibodies are all clinically significant since they may cause both Transfusion Reactions and Haemolytic Disease of the Newborn.

#### INTENDED PURPOSE

The Rh reagents are blood grouping reagents intended to be used to qualitatively determine the presence or absence of Rh antigens on the red cells of blood donors or patients requiring a blood transfusion when tested in accordance with the recommended techniques stated in this IFU.

#### PRINCIPLE

The reagents contain antibodies to the appropriate Rhesus antigen on human red cells and will cause direct agglutination (clumping) of red cells that carry the corresponding Rh antigen. No agglutination (no clumping) generally indicates the absence of the corresponding Rh antigen (see **Limitations**).

#### REAGENTS

Lorne Monoclonal IgM Anti-Rh blood grouping reagents are low protein reagents containing human monoclonal antibodies diluted with sodium chloride, bovine albumin and macromolecular potentiators (4.0 g%). The reagents do not contain or consist of CMR substances, or endocrine disrupting substances or that could result in sensitisation or an allergic reaction by the user. Each reagent is supplied at optimal dilution for use with all recommended techniques stated below without need for further dilution or addition. For lot reference number and expiry date see **Vial Label**.

| Reagent | Cell Line / Clone |
|---------|-------------------|
| Anti-C  | MS-24             |
| Anti-E  | MS-258            |
| Anti-c  | MS-33             |
| Anti-e  | MS-16 + MS-63     |

#### STORAGE

Reagent vials should be stored at 2 - 8°C on receipt. Prolonged storage at temperatures outside this range may result in accelerated loss of reagent reactivity. This reagent has undergone transportation stability studies at 37°C and -25°C as described in document BS EN ISO 23640:2015.

#### SAMPLE COLLECTION AND PREPARATION

Blood samples can be collected into EDTA, citrate, CPDA anticoagulants or as a clotted sample. The samples should be tested as soon as possible following collection. If a delay in testing should occur, store the samples at 2-8°C. Samples displaying gross haemolysis or microbial contamination should not be used for testing. Blood samples showing evidence of lysis may give unreliable results. It is preferable (but not essential) to wash all blood samples with PBS or Isotonic saline before being tested.

#### PRECAUTIONS

1. The reagents are intended for *in vitro* diagnostic use only.
2. If a reagent vial is cracked or leaking, discard the contents immediately.
3. Do not use the reagents past the expiration date (see **Vial Label**).
4. Do not use the reagents if a precipitate is present.
5. Protective clothing should be worn when handling the reagents, such as disposable gloves and a laboratory coat.
6. The reagents have been filtered through a 0.2 µm capsule to reduce the bio-burden, but is not supplied sterile. Once a vial has been opened the contents should remain viable up until the expiry date as long as there is no marked turbidity, which can indicate reagent deterioration or contamination.
7. The reagents contain < 0.1% sodium azide. Sodium azide may be toxic if ingested and may react with lead and copper plumbing to form explosive metal azides. On disposal flush away with large volumes of water.
8. Materials used to produce the products were tested at source and found to be negative for HIV 1+2 and HCV antibodies and HBsAg using approved microbiological tests.
9. No known tests can guarantee that products derived from human or animal sources are free from infectious agents. Care must be taken in the use and disposal of each vial and its contents.

#### DISPOSAL OF REAGENT AND DEALING WITH SPILLAGES

For information on disposal of the reagent and decontamination of a spillage site see **Material Safety Data Sheets**, available on request.

#### CONTROLS AND ADVICE

1. It is recommended a positive control (ideally heterozygous) and a negative control be tested in parallel with each batch of tests. Tests must be considered invalid if controls do not show expected results.

2. When typing red cells from patients known or suspected to have auto-antibodies, protein abnormalities or a positive Direct Antiglobulin Test (DAT), it is important that a reagent negative control is tested in parallel. For the reagent negative control, only Lorne Monoclonal Rh Control, catalogue number 640010, must be used.
3. Weak Rh antigens may be poorly detected by the gel card, microtitre plate and slide technique. It is recommended that weak Rh antigens are tested using the tube test technique.
4. Before use, let the reagent warm up to room temperature. As soon as the reagent has been used, put the reagent back in storage at 2-8°C.
5. In the **Recommended Techniques** one volume is approximately 50µl when using the vial dropper provided.
6. The use of reagents and interpretation of results must be carried out by properly trained and qualified personnel in accordance with requirements of the country where the reagents are in use. The user must determine suitability of the reagents for use in other techniques.

#### REAGENTS AND MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

##### Tube Technique

- Glass test tubes (10 x 75 mm or 12 x 75 mm).
- Centrifuge capable of spinning at 1000 g for 20 seconds.
- PBS solution (pH 6.8-7.2) or Isotonic saline solution (pH 6.5-7.5).
- Positive and negative control red cells:  
Monoclonal Anti-C: R<sub>1</sub>R (positive control) and rr (negative control).  
Monoclonal Anti-E: R<sub>2</sub>R (positive control) and rr (negative control).  
Monoclonal Anti-c: R<sub>1</sub>R (positive control) and R<sub>1</sub>R<sub>1</sub> (negative control).  
Monoclonal Anti-e: R<sub>2</sub>R (positive control) and R<sub>2</sub>R<sub>2</sub> (negative control).

##### Bio-Rad-ID Micro Typing Technique

- Bio-Rad ID-Cards (NaCl, Enzyme tests and Cold Agglutinins).
- Bio-Rad ID-Centrifuge.
- Bio-Rad ID-CellStab or ID-Diluent 2.

##### Ortho BioVue Typing Technique

- Ortho BioVue System Cassettes (Neutral).
- Ortho BioVue System Centrifuge.
- Ortho 0.8% Red Cell Diluent.

##### Microtitre plate Technique

- Validated "U" well microtitre plates.
- Microtitre plate centrifuge.
- Microtitre plate shaker.

##### Slide Technique

- Glass microscope slides or white card tiles.
- Applicator sticks.
- Timer or stopwatch

##### All Techniques

- Volumetric pipettes.

#### RECOMMENDED TECHNIQUES

##### A. Tube Technique

1. Prepare a 2-3% suspension of red cells in PBS or Isotonic saline.
2. Place in a labelled test tube: 1 volume Lorne Anti-Rh reagent and 1 volume red cell suspension.
3. Mix thoroughly and centrifuge all tubes for 20 seconds at 1000 rcf or for a suitable alternative time and force.
4. Gently resuspend red cell button and read macroscopically for agglutination.
5. Any tubes, which show a negative or questionable result, should be incubated for 15 minutes at room temperature.
6. Following incubation, repeat steps 3 and 4.

##### B. Bio-Rad ID Technique (NaCl, Enzyme and Cold agglutinins cards)

1. Prepare a 0.8% suspension of red cells in ID-CellStab or ID-Diluent 2.
2. Remove aluminium foil from as many microtubes on the NaCl/Enzyme/Cold agglutinins ID-Card as needed.
3. Place in appropriate microtube: 50µl of red cell suspension and 25µl of Lorne Anti-Rh reagent.
4. Centrifuge the ID-Card(s) in a Bio-Rad ID centrifuge.
5. Read macroscopically for agglutination.

##### C. Ortho BioVue Technique (Neutral cassettes)

1. Prepare a 0.8% suspension of red cells in 0.8% Ortho Red Cell Diluent.
2. Remove aluminium foil from as many reaction chambers on the Neutral cassette as needed.



- Place in appropriate reaction chamber: 50µl of red cell suspension and 40µl of Lorne Anti-Rh reagent.
- Centrifuge cassette(s) for 5 minutes in an Ortho BioVue System Centrifuge.
- Read macroscopically for agglutination.

#### D. Microplate Technique, using “U” wells

- Prepare a 2-3% suspension of red cells in PBS or Isotonic saline.
- Place in the appropriate well: 1 volume Lorne Anti-Rh reagent and 1 volume red cell suspension.
- Mix thoroughly, preferably using a microplate shaker, taking care to avoid cross-well contamination.
- Incubate at room temperature for 15 minutes (time dependant on user).
- Centrifuge the microplate for 1 minute at 140 rcf or for a suitable alternative time and force.
- Resuspend the cell buttons using carefully controlled agitation on a microplate shaker
- Read macroscopically or with a validated automatic reader.
- Any weak reactions should be repeated by the tube technique.

#### E. Slide Technique

- Prepare a 35-45% suspension of red cells in serum, plasma or PBS or Isotonic saline. If this is not possible, whole anti-coagulated blood may also be used as the sample.
- Place on a labelled glass slide or card tile: 1 volume of Lorne Anti-Rh reagent and 1 volume of red cell suspension.
- Using a clean applicator stick, mix reagent and cells over an area of about 20 x 40 mm.
- Slowly tilt the slide back and forth for 1-minute, maintaining slide at room temperature.
- Read macroscopically after 1 minute over a diffuse light and do not mistake fibrin strands as agglutination.
- Any weak reactions should be repeated by the tube technique.

#### INTERPRETATION OF TEST RESULTS

- Positive:** Agglutination of the red cells constitutes a positive test result and within accepted limitations of test procedure, indicates the presence of the appropriate Rh antigen on the red cells.
- Negative:** No agglutination of the red cells constitutes a negative result and within the accepted limitations of the test procedure, indicates the absence of the appropriate Rh antigen on the red cells.
- Test results of cells that are agglutinated using the reagent negative control shall be excluded, as the agglutination is most probably caused by the effect of the macromolecular potentiators in the reagent on sensitised cells.

#### STABILITY OF THE REACTIONS

- Read all tube and microplate tests straight after centrifugation.
- Slide tests should be interpreted within one minute to ensure specificity and to avoid the possibility a negative result may be incorrectly interpreted as positive due to drying of the reagent.
- Caution should be exercised in the interpretation of results of tests performed at temperatures other than those recommended.

#### LIMITATIONS

- Lorne Anti-Rh reagents are not suitable for use with enzyme treated cells or for use in indirect antiglobulin techniques.
- Many Monoclonal human IgM anti-Rh antibodies have been shown to possess anti-i/I cold agglutinin activity, particularly with cord cells or enzyme treated cells. This may become apparent if tests are incubated below the recommended temperature.
- Some red cells express variant Rh antigens and may give weaker reactions than seen with randomly selected positive control cells. Anti-C may give weaker reactions with C antigen of R<sub>2</sub>R<sub>2</sub> individuals. Similarly, Anti-e may give slightly weaker reactions in absence of C antigen, e.g. R<sub>2</sub>r, r<sup>+</sup>r and rr.
- Suppressed or diminished expression of certain blood group antigens may conversely give rise to false negative reactions. For these reasons, caution should always be exercised when assigning genotypes on the basis of test results.
- False positive or false negative results may also occur due to:
  - Contamination of test materials
  - Improper storage, cell concentration, incubation time or temperature
  - Improper or excessive centrifugation
  - Deviation from the recommended techniques

#### SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

- Prior to release, each lot of Rh reagent was tested using the recommended test methods listed in this IFU. The tests complied with the test requirements as stated in the current version/issue of the “Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom” and the “Common Technical Specifications.
- Specificity of source Monoclonal antibodies is demonstrated using a panel of antigen-negative cells.
- The Quality Control of the reagents was performed using red cells with phenotypes that were verified by a UK blood transfusion centre and had been washed with PBS or Isotonic saline prior to use.

#### DISCLAIMER

- The user is responsible for the performance of the reagents by any method other than those mentioned in the **Recommended Techniques**.
- Any deviations from the **Recommended Techniques** should be validated prior to use<sup>5</sup>.

#### BIBLIOGRAPHY

- Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3<sup>rd</sup> Edition, Montgomery Scientific, Miami, 1985, Chapter 10.
- AABB Technical Manual, 16<sup>th</sup> edition, AABB 2008.
- Jones J, Scott ML, Voak D. Monoclonal anti-D specificity and Rh D structure: criteria for selection of monoclonal anti-D reagents for routine typing of patients and donors. Transfusion Medicine 1995, **5**, 171-184
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6<sup>th</sup> Edition 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.

#### AVAILABLE REAGENT SIZES

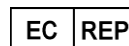
|                   | Vial Size | Catalogue Number | Tests per vial |
|-------------------|-----------|------------------|----------------|
| Anti-C Monoclonal | 5 ml      | 690005           | 100            |
|                   | 1000 ml   | 690000*          | 20,000         |
| Anti-E Monoclonal | 5 ml      | 691005           | 100            |
|                   | 1000 ml   | 691000*          | 20,000         |
| Anti-c Monoclonal | 5 ml      | 692005           | 100            |
|                   | 1000 ml   | 692000*          | 20,000         |
| Anti-e Monoclonal | 5 ml      | 693005           | 100            |
|                   | 1000 ml   | 693000*          | 20,000         |

\*This size is For Further Manufacturing Use (FFMU) only and is therefore not CE marked.



#### Lorne Laboratories Limited

Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate  
Danehill  
Lower Earley  
Berkshire, RG6 4UT  
United Kingdom  
Tel: +44 (0) 118 921 2264  
Fax: +44 (0) 118 986 4518  
E-mail: info@lornelabs.com



Advena Ltd. Tower Business Centre, 2<sup>nd</sup> Flr.,  
Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta