

Amestec de ANTI-IgG ȘI ANTI-C3d POLISPECIFICE AHG (IEPURE) INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

AHG Elite (Clear sau Green): Pentru tehnici cu antiglobulină.

REZUMAT

În 1945, Coombs, Mourant și Race au descris utilizarea serului AHG pentru detectarea anticorpilor fără aglutinare legați de globulele roșii. În 1957, Dacie et al au demonstrat că anticorpii prezenți în serul antiglobulinic au fost direcționați împotriva anumitor componente ale complementului. Reactivii AHG detectează moleculele de anticorpi fără aglutinare, precum și moleculele complementului atașate la globulele roșii după reacții antigen-anticorp *in vivo* sau *in vitro*.

SCOPUL PROPUȘ

Acești reactivi sunt reactivi polispecifici pentru determinarea grupei sanguine utilizați în scopul detectării calitative a prezenței sau absenței anticorpilor IgG de sensibilizare (toate cele 4 subclase) și a factorilor C3d și C3b ai complementului pe globulele roșii umane în cazul testării conform tehnicilor recomandate și prezentate în aceste instrucțiuni de utilizare.

PRINCIPIUL

Reactivii conțin anticorpi împotriva anticorpilor IgG umane și factorilor complementului C3 (C3d și C3b) de pe globulele roșii umane și vor provoca aglutinarea (aglomerarea) directă a globulelor roșii sensibilizate cu anticorpi ai IgG umane și/sau factori ai complementului C3 (C3d și C3b). Neaglutinarea indică în general absența anticorpilor IgG umane de sensibilizare și factorilor complementului C3 (C3d și C3b) de pe globulele roșii umane (Consultați Limitări).

REACTIVI

Reactivii AHG Elite Clear și AHG Elite Green Lorne conțin Anti-IgG derivați din iepuri cu activitate nespecifică eliminată prin absorbție și IgM Anti-C3d monoclonal de la șoareci, Clone BRIC-8. Anticorpii sunt diluați într-o soluție tamponată care conține albumină bovină. Reactivii nu conțin sau nu sunt compuși din substanțe CMR, substanțe perturbatoare pentru sistemul endocrin sau care ar putea provoca sensibilizare sau o reacție alergică în cazul utilizatorului. Fiecare reactiv este furnizat la diluarea optimă pentru utilizare cu toate tehnicile recomandate prezentate mai jos fără să mai fie necesară diluarea sau adăugarea suplimentară. Pentru numărul de referință al lotului și data de expirare, consultați **Eticheta flaconului**.

Reactiv	Linie celulară/Clonă	Culoare	Colorant utilizat
AHG Elite Clear	Anti-IgG umană de iepure BRIC-8 (Anti-C3d)	Incolor	Niciunul
AHG Elite Green	Anti-IgG umană de iepure BRIC-8 (Anti-C3d)	Verde	Albastru patent și tartrazină

DEPOZITARE

Flacoanele cu reactiv trebuie depozitate la temperaturi cuprinse între 2 și 8 °C după primire. Depozitarea prelungită la temperaturi în afara acestui interval poate duce la pierderea accelerată a reactivității. Acest reactiv a fost supus unor studii de stabilitate la transport la 37 °C și -25 °C, conform precizărilor din documentul BS EN ISO 23640:2015.

RECOLTAREA ȘI PREGĂTIREA PROBEI

Probele trebuie prelevate aseptice în EDTA pentru a preveni legarea complementului *in vitro* și trebuie testate cât mai curând posibil. Dacă nu este disponibil EDTA, se preferă probele prelevate în ACD, CPD sau CPDA-1 față de cele coagulate. Dacă sunt disponibile numai probe coagulate, nu le țineți la frigider înainte de testare.

PRECAUȚII

- Reactivii sunt destinați exclusiv diagnosticului *in vitro*.
- Dacă un flacon cu reactiv este crăpat sau curge, aruncați conținutul imediat.
- Nu folosiți reactivii după data de expirare (consultați **Eticheta flaconului**).
- Nu folosiți reactivii dacă observați că s-a format un precipitat.
- Purtați echipament de protecție când manipulați reactivii, cum ar fi mănuși de unică folosință și un halat de laborator.
- Reactivii au fost filtrați printr-o membrană de 0,2 μm pentru a reduce încărcătura biologică, dar nu sunt livrați sterili. După deschiderea flaconului, reactivul poate fi folosit până la data de expirare dacă nu se observă o turbiditate marcată, care ar putea indica deteriorarea sau contaminarea reactivului.
- Reactivii conțin <0,1% de azidă de sodiu. Azida de sodiu poate fi toxică dacă este ingerată și poate reacționa cu conductele din plumb sau cupru formând azide metalice explozive. La eliminare, spălați cu cantități mari de apă.

- Materialele utilizate pentru fabricarea produselor au fost testate la sursă și au indicat un rezultat negativ pentru anticorpii HIV 1+2 și HCV, și HBsAg în cadrul unor teste microbiologice aprobate.
- Nu se cunosc teste care să garanteze faptul că produsele derivate din surse umane sau animale nu prezintă agenți infecțioși. Fiți atenți când utilizați și când eliminați un flacon și conținutul acestuia.

ELIMINAREA REACTIVULUI ȘI CUM SE ACȚIONEAZĂ ÎN CAZ DE STROPIRE

Pentru informații privind eliminarea reactivilor și metodele de decontaminare a unui loc în caz de stropire, consultați **Fișele cu date de securitate ale materialului**, disponibile la cerere.

MARTORI ȘI RECOMANDĂRI

- Se recomandă testarea în paralel a unui martor pozitiv (Anti-D slab < 0,1 IU/ml) și a unui martor negativ (un ser inert) cu fiecare lot de teste. Testele trebuie considerate nevalide dacă probele martor nu prezintă rezultatele prevăzute.
- Tehnicile antiglobulinice pot fi considerate valide numai dacă toate testele negative reacționează pozitiv cu globulele roșii sensibilizate cu IgG.
- Înainte de utilizare, lăsați reactivul să ajungă la temperatura camerei. Imediat după utilizare, depozitați reactivul înapoi la o temperatură cuprinsă între 2 și 8 °C.
- În **Tehnici recomandate**, un volum reprezintă aproximativ 50 μl cu pipeta flaconului furnizată.
- Utilizarea reactivilor și interpretarea rezultatelor trebuie efectuate de personal calificat și instruit în mod corespunzător în conformitate cu cerințele țării în care se utilizează reactivii.
- Utilizatorul trebuie să stabilească în ce măsură se pot utiliza reactivii în alte tehnici.

REACTIVI ȘI MATERIALE NECESARE

- Spălător de celule Coombs.
- Eprubete de sticlă (10 x 75 mm sau 12 x 75 mm).
- Globule roșii sensibilizate cu IgG, de ex. Celule de control Coombs Lorne (Cat # 970010).
- Anticorp inert, de ex. Inert AB Serum Lorne (Cat # 110010).
- Soluție cu putere ionică joasă (LISS): Conține 0,03M NaCl, 0,003M Na₂HPO₄; tampon NaH₂PO₄ pH 6,7 la 22 °C ± 1 °C și glicină 0,24M.
- Soluție PBS (pH 6,8–7,2) sau soluție salină izotonă (pH 6,5–7,5).
- Pipete volumetrice.
- Baie de apă sau incubator cu căldură uscată echilibrată la 37 °C ± 2 °C.
- Anti-D slab, de ex., Precise Weak Anti-D Lorne (Cat # 209005).

TEHNICI RECOMANDATE

A. Tehnica directă cu antiglobulină (DAT)

- Spălați 1 volum de globule roșii (suspensie de 2–3% în PBS sau soluție salină izotonă) de 4 ori cu PBS sau soluție salină izotonă, având grijă să decantați soluția salină între spălări și să resuspendați fiecare buton de celule după fiecare spălare. Decantați complet soluția salină după ultima spălare.
- Adăugați 2 volume de AHG Elite Lorne la fiecare buton de celule uscate.
- Amestecați temeinic și centrifugați toate eprubetele timp de 20 de secunde la 1000 rcf sau la un alt raport adecvat între timp și forță.
- Resuspendați ușor butonul de hematii și efectuați citirea microscopică pentru aglutinare.

B. Tehnica indirectă cu antiglobulină (NISS IAT)

- Pregătiți o suspensie de 2-3% din globulele roșii în PBS sau soluție salină izotonă.
- Puneți într-o eprubetă etichetată: 2 volume de ser de testare și 1 volum de suspensie de globule roșii.
- Amestecați bine și incubați la 37 °C timp de 15 minute.
- Spălați globulele roșii de 4 ori cu PBS sau soluție salină izotonă, având grijă să decantați soluția salină între spălări și să resuspendați fiecare buton de globule roșii după fiecare spălare. Decantați complet soluția salină după ultima spălare.
- Adăugați 2 volume de AHG Elite Lorne la fiecare buton de celule uscate.
- Amestecați temeinic și centrifugați toate eprubetele timp de 20 de secunde la 1000 rcf sau la un alt raport adecvat între timp și forță.
- Resuspendați ușor butonul de hematii și efectuați citirea microscopică pentru aglutinare.

C. Tehnica indirectă cu antiglobulină LISS (LISS IAT)

- Pregătiți o suspensie de 1,5-2% din globulele roșii în LISS.

- Puneți într-o eprubetă etichetată: 2 volume de ser de testare și 2 volume de suspensie de globule roșii.
- Amestecați bine și incubați la 37 °C timp de 15 minute.
- Urmați pașii de la 4 la 7 ai NISS IAT de mai sus.

INTERPRETAREA REZULTATELOR TESTULUI

- Pozitiv:** Aglutinarea globulelor roșii constituie un rezultat pozitiv și, în limitele acceptate ale procedurii de testare, indică prezența IgG și/sau complementului (C3d / C3b) pe globulele roșii.
- Negativ:** Neaglutinarea globulelor roșii constituie un rezultat negativ și, în limitele acceptate ale procedurii de testare, indică absența IgG și/sau complementului (C3d / C3b) pe globulele roșii.

STABILITATEA REACȚIILOR

- Etapele de spălare trebuie finalizate fără întrerupere, iar probele trebuie centrifugate și citite imediat după adăugarea reactivului. Orice întârziere poate duce la disocierea complexelor antigen-anticorp, generând rezultate fals negative sau slab pozitive.
- Aveți grijă la interpretarea rezultatelor testelor efectuate la alte temperaturi decât cele **recomandate**.

LIMITĂRI

- Globulele roșii care au un test antiglobulinic direct (DAT) pozitiv din cauza acoperirii cu IgG nu pot fi tipizate prin **Tehnicile indirecte cu antiglobulină**.
- Este posibil ca un DAT pozitiv din cauza sensibilizării complementului să nu reflecte fixarea complementului *in vivo* dacă celulele de testare provin dintr-un specimen coagulat ținut la rece.
- Spălarea necorespunzătoare a globulelor roșii din tehnicile indirecte cu antiglobulină poate neutraliza reactivul AHG.
- La finalizarea etapei de spălare, excesul de soluție salină reziduală poate dilua AHG Elite, reducându-i forța.
- Un rezultat negativ la un test antiglobulinic direct nu exclude neapărat diagnosticarea clinică a bolii hemolitice ABO a nou-născutului sau anemie hemolitică autoimună. De asemenea, nu elimină neapărat HDN, mai ales dacă se suspectează incompatibilitatea ABO.
- Rezultatele fals pozitive sau fals negative pot fi generate și de:
 - Contaminarea materialelor folosite în testare
 - Depozitarea, concentrația celulară, timpul sau temperatura de incubare necorespunzătoare
 - Centrifugarea necorespunzătoare sau excesivă

CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ SPECIFICE

- Înainte de a fi pus pe piață, fiecare lot de reactivi de acest fel a fost testat conform metodelor recomandate și enumerate în aceste instrucțiuni de utilizare pe globule roșii acoperite cu Anti-D, Anti-K și Anti-Fy^a pentru a se stabili reactivitatea adecvată. Testele corespund cerințelor de testare prezentate în numărul/versiunea curentă a „Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom” (Orientări pentru Serviciile de transfuzii sanguine din Regatul Unit).
- Forța Anti-IgG și Anti-C3d a fost testată în raport cu standardul de referință privind forța minimă obținut de la Institutul Național de Standarde Biologice și Control (NIBSC):
 - Standard de referință Anti-AHG 96/666
- Forța Anti-C3d este demonstrată în teste care utilizează celule acoperite cu C3d și C3b.
- Prezența aglutininelor sau anticorpilor contaminanți la C4d heterospecfici a fost exclusă în testele care utilizează globule roșii de la toate grupele ABO și celule acoperite cu C4d.
- Reactivitatea componentelor Anti-IgM, Anti-IgA sau anti-Ianț ușor care ar putea fi prezente nu a fost stabilită.
- Controlul calității reactivilor a fost efectuat cu globule roșii cu fenotipuri care au fost verificate de un centru pentru transfuzii sanguine din Regatul Unit și care au fost spălate cu PBS sau soluție salină izotonă înainte de utilizare.

DECLINAREA RESPONSABILITĂȚII

- Utilizatorul este singurul responsabil pentru performanța reactivilor în cazul utilizării altor metode decât cele menționate în **Tehnici recomandate**.
- Orice abatere de la **Tehnicile recomandate** trebuie validată înainte de utilizare⁸.

BIBLIOGRAFIE

- Voak D, Downie DM, Moore BPL, and Engelfreit CP. Anti-Human Globulin reagent specification. The European and ISBT/ICSH View. Biotest Bulletin 1: 7-22 (1986).
- The Department of Health and Social Security. Health Services Management Antiglobulin Test. False negative results, HN (Hazard) (83) 625 Nov 1983.
- Bruce M, Watt AH, Hare W, Blue A, Mitchell R. A serious source of error in antiglobulin testing. Transfusion 1986; **26**: 177-181.
- Voak D, Downie DM, Moore BPL, Ford DS, Engelfreit CP, Case J. Replicate tests for the detection and correction of errors in AHG (AHG) tests: optimum conditions and quality control. Haematologia 1988; **21**(1): 3-16.
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6th 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.

DIMENSIUNI REACTIV DISPONIBILE

	Mărime flacon	Număr de catalog	Teste per flacon
AHG Elite Lorne (Clear)	10 ml	415010	100
	1000 ml	415000*	10.000
AHG Elite Lorne (Green)	10 ml	435010	100
	1000 ml	435000*	10.000

*Acestă mărime este valabilă numai pentru utilizare de fabricație suplimentară (FFMU) și, prin urmare, nu are marcajul CE.



Lorne Laboratories Limited

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

EC	REP
----	-----

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

DIRECTIONS FOR USE

AHG Elite (Clear or Green): For Antiglobulin Techniques.**SUMMARY**

In 1945, Coombs, Mourant and Race described the use of anti-human globulin serum for detecting red cell-bound non-agglutinating antibodies. In 1957, Dacie et al showed that the antibodies present in antiglobulin sera were directed against certain components of complement. Anti-human globulin reagents detect non-agglutinating antibody molecules as well as molecules of complement attached to red cells following in vivo or in vitro antigen-antibody reactions.

INTENDED PURPOSE

These reagents are polyspecific blood grouping reagents intended to be used to qualitatively detect the presence or absence of sensitising IgG antibodies (all 4 subclasses) and complement factors C3d and C3b on human red cells when tested in accordance with the recommended techniques stated in this IFU.

PRINCIPLE

The reagents contain antibodies against human IgG antibodies and C3 complement factors (C3d and C3b) on human red cells and will cause direct agglutination (clumping) of red cells that are sensitised with human IgG antibodies and/or C3 complement factors (C3d and C3b). No agglutination generally indicates the absence of sensitising human IgG antibodies and C3 complement factors (C3d and C3b) on human red cells (See **Limitations**).

REAGENT

Lorne AHG Elite Clear and AHG Elite Green reagents contain anti-IgG derived from rabbits with non-specific activity removed by adsorption and mouse monoclonal IgM anti-C3d. Clone BRIC-8. The antibodies are diluted in a buffered solution containing bovine albumin. 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 the 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	Colour	Dye Used
AHG Elite Clear	Rabbit Anti-Human IgG BRIC-8 (Anti-C3d)	Colourless	None
AHG Elite Green	Rabbit Anti-Human IgG BRIC-8 (Anti-C3d)	Green	Patent Blue and Tartrazine

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

Samples should be drawn aseptically into EDTA to prevent in vitro complement binding and tested as soon as possible. If EDTA is unavailable, samples drawn into ACD, CPD or CPDA-1 are preferable to clotted ones. If only clotted samples are available, do not refrigerate them before testing.

PRECAUTIONS

- The reagents are intended for in vitro diagnostic use only.
- If a reagent vial is cracked or leaking, discard the contents immediately.
- Do not use the reagents past the expiration date (see Vial Label).
- Do not use the reagents if a precipitate is present.
- Protective clothing should be worn when handling the reagents, such as disposable gloves and a laboratory coat.
- The reagents have been filtered through a 0.2 µm capsule to reduce the bio-burden, but are 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.
- 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.
- 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.
- 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 reagents and decontamination of a spillage site see Material Safety Data Sheets, available on request.

CONTROLS AND ADVICE

- It is recommended a positive control (weak Anti-D <0.1 IU/ml) and a negative control (an inert serum) be tested in parallel with each batch of tests. Tests must be considered invalid if controls do not show expected results.
- The antiglobulin techniques can only be considered valid if all negative tests react positively with IgG sensitised red cells.

- 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.
- In the Recommended Techniques one volume is approximately 50µl when using the vial dropper provided.
- Use of the reagents and the 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. User must determine the suitability of the reagents for use in other techniques.

REAGENTS AND MATERIALS REQUIRED

- Coombs cell washer.
- Glass test tubes (10 x 75 mm or 12 x 75 mm).
- IgG sensitised red cells e.g. Lorne Coombs Control Cells (Cat # 970010).
- Inert antibody e.g. Lorne Inert AB Serum (Cat # 110010).
- Low Ionic Strength Solution (LISS): Containing 0.03M NaCl, 0.003M Na₂HPO₄: NaH₂PO₄ buffer pH 6.7 at 22°C ± 1°C and 0.24M glycine.
- PBS solution (pH 6.8-7.2) or Isotonic saline solution (pH 6.5-7.5).
- Volumetric pipettes.
- Water bath or dry heat incubator equilibrated to 37°C ± 2°C.
- Weak anti-D e.g. Lorne Precise Weak Anti-D (Cat # 209005).

RECOMMENDED TECHNIQUES**A. Direct Antiglobulin Technique (DAT)**

- Wash 1 volume of red cells (2-3% suspension in PBS or Isotonic saline) 4 times with PBS or Isotonic saline, taking care to decant saline between washes and resuspend each cell button after each wash. Completely decant saline after last wash.
- Add 2 volumes of Lorne AHG Elite to each dry cell button.
- Mix thoroughly and centrifuge all tubes for 20 seconds at 1000 rcf or for a suitable alternative time and force.
- Gently resuspend red cell button and read macroscopically for agglutination

B. Indirect Antiglobulin Technique (NISS IAT)

- Prepare a 2-3% suspension of red cells in PBS or Isotonic saline.
- Place in a labelled test tube: 2 volumes of test serum and 1 volume of red cell suspension.
- Mix thoroughly and incubate at 37°C for 15 minutes.
- Wash red cells 4 times with PBS or Isotonic saline, taking care to decant saline between washes and resuspend each red cell button after each wash. Completely decant saline after last wash.
- Add 2 volumes of Lorne AHG Elite to each dry cell button.
- Mix thoroughly and centrifuge all tubes for 20 seconds at 1000 rcf or for a suitable alternative time and force.
- Gently resuspend red cell button and read macroscopically for agglutination

C. LISS Indirect Antiglobulin Technique (LISS IAT)

- Prepare a 1.5-2% suspension of red cells in LISS.
- Place in a labelled test tube: 2 volumes of test serum and 2 volumes of red cell suspension.
- Mix thoroughly and incubate at 37°C for 15 minutes.
- Follow steps 4 to 7 of NISS IAT above.

INTERPRETATION OF TEST RESULTS

- Positive: Agglutination of test red cells constitutes a positive test result and within the accepted limitations of the test procedure, indicates the presence of IgG and/or complement (C3d/C3b) on the red cells.
- Negative: No agglutination of the test red cells constitutes a negative result and within the accepted limitations of the test procedure, indicates the absence of IgG and complement (C3d/C3b) on the red cells.

STABILITY OF THE REACTIONS

- Washing steps should be completed without interruption and tests centrifuged and read immediately after addition of the reagent. Delays may result in dissociation of antigen-antibody complexes, causing false negative or weak positive results.
- Caution should be exercised in the interpretation of results of tests performed at temperatures other than those recommended.

LIMITATIONS

- Red cells that have a positive DAT due to a coating of IgG cannot be typed by the Indirect Antiglobulin Techniques.
- A positive DAT due to complement sensitisation may not reflect in vivo complement fixation if test cells are from a refrigerated clotted specimen.
- Inadequate washing of red cells in the indirect antiglobulin techniques may neutralise the AHG reagent.
- Following completion of the wash phase excess residual saline may dilute the AHG Elite, reducing its potency.
- A negative direct antiglobulin test result does not necessarily preclude clinical diagnosis of ABO Haemolytic Disease of the Newborn or Auto Immune Haemolytic Anaemia. It also does not necessarily rule out HDN, especially if ABO incompatibility is suspected.
- 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

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

1. Prior to release, each lot of the reagents were tested using the recommended test methods listed in this IFU against red cells coated with Anti-D, Anti-K and Anti-FyA to check suitable reactivity. 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'.
2. The anti-IgG and anti-C3d potencies have been tested against the following minimum potency reference standard obtained from the National Institute of Biological Standards and Controls (NIBSC): Anti-AHG reference standard 96/666
3. Anti-C3d potency is demonstrated in tests employing cells coated with C3d and C3b.
4. The presence of contaminating heterospecific agglutinins or antibodies to C4d has been excluded in tests employing red cells of all ABO groups and cells coated with C4d.
5. The reactivity of any Anti-IgM, Anti-IgA or Anti-light chain components that might be present has not been established.
6. 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

1. The user is responsible for the performance of the reagents by any method other than those mentioned in the Recommended Techniques.
2. Any deviations from the Recommended Techniques should be validated prior to use¹².

BIBLIOGRAPHY

1. Voak D, Downie DM, Moore BPL, and Engelfreit CP. Anti-Human Globulin reagent specification. The European and ISBT/ICSH View. Biotest Bulletin 1; 7-22 (1986).
2. The Department of Health and Social Security. Health Services Management Antiglobulin Test. False negative results, HN (Hazard) (83) 625 Nov 1983.
3. Bruce M, Watt AH, Hare W, Blue A, Mitchell R. A serious source of error in antiglobulin testing. Transfusion 1986; 26: 177-181.
4. Voak D, Downie DM, Moore BPL, Ford DS, Engelfreit CP, Case J. Replicate tests for the detection and correction of errors in anti-human globulin (AHG) tests: optimum conditions and quality control. Haematologia 1988; 21(1): 3-16.
5. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. 6th Edition 2002. The Stationery Office.
6. 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	Test Per Vial
Lorne AHG Elite	10 ml	415010	100
(Clear)	1000 ml	415000*	10,000
Lorne AHG Elite	10 ml	435010	100
(Clear)	1000 ml	435000*	10,000

*These sizes are For Further Manufacturing Use (FFMU) only and are therefore not CE marked.



Advena Ltd, Tower Business Centre, 2nd Floor, Tower Street,
Swatara, BKR 4013, Malta

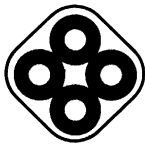


LORNE
LABORATORIES



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 Email: info@lornelabs.com www.lornelabs.com



MONOCLONAL BLOOD GROUPING REAGENTS
DIRECTIONS FOR USE

Anti-k (Cellano) Monoclonal: For Indirect Antiglobulin Techniques.

SUMMARY

The k (Cellano) antigen was reported in 1949. Anti-k has been implicated in Haemolytic Transfusion Reactions and Haemolytic Disease of the Newborn.

Anti-K	Anti-k	Phenotype	Caucasians ¹	Blacks ¹
+	0	K+k-	0.2%	Rare
+	+	K+k+	8.8%	2%
0	+	K-k+	91.0%	98%

INTENDED PURPOSE

The reagent is a blood grouping reagent intended to be used to qualitatively determine the presence or absence of the k (Cellano) antigen 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 reagent contains antibodies to the k (Cellano) antigen on human red cells and will cause indirect agglutination (clumping) of human red cells, that carries the corresponding specific antigen, in the antiglobulin phase of testing. No agglutination (no clumping) generally indicates the absence of the k (Cellano) antigen (see **Limitations**).

REAGENTS

This Monoclonal IgG blood grouping reagent contains human monoclonal antibodies diluted in a phosphate buffer containing sodium chloride and bovine albumin. 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. The reagent is supplied at optimal dilution for use with all the recommended techniques stated below without the need for further dilution or addition. For lot reference number and expiry date see **Vial Label**.

Product	Cell Line/Clone
Anti-k (Cellano)	P3A118OL67

STORAGE

Do not freeze. 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

- The reagents are intended for *in vitro* diagnostic use only.
- If a reagent vial is cracked or leaking, discard the contents immediately.
- Do not use the reagents past the expiration date (see **Vial Label**).
- Do not use the reagents if a precipitate is present.
- Protective clothing should be worn when handling the reagents, such as disposable gloves and a laboratory coat.
- 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.
- 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.
- Materials used to produce the reagents were tested at source and found to be negative for HIV 1+2 and HCV antibodies and HBsAg using approved microbiological tests.
- 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 reagents and decontamination of a spillage site see **Material Safety Data Sheets**, available on request.

CONTROLS AND ADVICE

- It is recommended a positive control (ideally heterozygous cells) 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.
- The antiglobulin techniques can only be considered valid if all negative tests react positively with IgG sensitised red cells.
- 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.
- In the **Tube Technique** one volume is approximately 50µl when using the vial dropper provided.
- The use of the reagents and the interpretation of results must be carried out by properly trained and qualified personnel in accordance with the requirements of the country where the reagents are in use.
- The user must determine the suitability of the reagents for use in other techniques.

REAGENTS AND MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Tube Technique

- Anti-human globulin i.e. Lorne AHG Elite (Cat # 435010 or 415010) or Anti-Human IgG i.e. Lorne Anti-Human IgG (Cat # 402010 or 401010).
- Coombs cell washer.
- Glass test tubes (10 x 75 mm or 12 x 75 mm).
- PBS solution (pH 6.8-7.2) or Isotonic saline solution (pH 6.5-7.5).
- IgG sensitised red cells i.e. Lorne Coombs Control Cells (Cat # 970010).
- Positive (ideally heterozygous) and negative control red cells.
- Water bath or dry heat incubator equilibrated to 37°C ± 2°C.

Bio-Rad-ID Micro Typing Technique

- Bio-Rad ID-Cards (LISS/Coombs or Coombs Anti-IgG).
- Bio-Rad ID-Centrifuge.
- Bio-Rad ID-CellStab or ID-Diluent 2.
- Bio-Rad ID-Incubator equilibrated to 37°C ± 2°C.

Ortho BioVue Typing Technique

- Ortho BioVue System Cassettes (AHG Polyspecific or AHG Anti-IgG).
- Ortho BioVue System Centrifuge.
- Ortho BioVue System Heat Block equilibrated to 37°C ± 2°C.
- Ortho 0.8% Red Cell Diluent.

All Techniques

Volumetric pipettes.

RECOMMENDED TECHNIQUES

A. Indirect Antiglobulin Technique (IAT)

- Prepare a 2-3% suspension of red cells in PBS or Isotonic saline.
- Place in a labelled test tube: 1 volume of Lorne reagent and 1 volume of red cell suspension.
- Mix thoroughly and incubate at 37°C for 15 minutes.
- Wash red cells 1 time with PBS or Isotonic saline, taking care to completely decant saline after the wash.
- Add 2 volumes of anti-human globulin or anti-IgG to each dry cell button.
- Mix thoroughly and centrifuge all tubes for 20 seconds at 1000 rcf or for a suitable alternative time and force.
- Gently resuspend red cell button and read macroscopically for agglutination.
- Confirm validity of all negative reactions with IgG sensitised red cells.

B. Bio-Rad ID Micro Typing Technique

- Prepare a 0.8% suspension of red cells in the ID-CellStab or ID-Diluent 2.
- Remove aluminium foil from as many microtubes as needed on either LISS/Coombs or Coombs Anti-IgG ID cards.
- Place in appropriate microtube: 50µl of red cell suspension and 25µl of Lorne reagent.
- Incubate the ID-Card(s) for 15 minutes at 37°C.
- Centrifuge the ID-Card(s) in the Bio-Rad ID-Card centrifuge.
- Read macroscopically for agglutination.

C. Ortho BioVue Typing Technique

- Prepare a 0.8% suspension of red cells in 0.8% Ortho Red Cell Diluent.
- Remove aluminium foil from as many reaction chambers as needed on either AHG Polyspecific or AHG Anti-IgG cassettes.
- Place in appropriate reaction chamber: 50µl of red cell suspension and 40µl of Lorne reagent.
- Incubate the cassette(s) for 15 minutes at 37°C.
- Centrifuge cassette(s) in an Ortho BioVue System Centrifuge.

6. Read macroscopically for agglutination.

INTERPRETATION OF TEST RESULTS

1. **Positive:** Agglutination of the red cells constitutes a positive test result and within accepted limitations of test procedure, indicates the presence of the appropriate antigen on the red cells.
2. **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 antigen on the red cells.

STABILITY OF THE REACTIONS

1. Washing steps should be completed without interruption and tests centrifuged and read immediately after addition of the reagent. Delays may result in dissociation of antigen-antibody complexes, causing false negative or weak positive results.
2. Caution should be exercised in the interpretation of results of tests performed at temperatures other than those **recommended**.

LIMITATIONS

1. Red cells that have a positive DAT due to a coating of IgG cannot be typed by the **Indirect Antiglobulin Technique**.
2. Suppressed or diminished expression of certain blood group antigens may conversely give rise to false negative reactions and so caution should always be exercised when assigning genotypes on the basis of test results.
3. 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

1. Prior to release, each lot of these reagents 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".
2. Specificity of source monoclonal antibodies is demonstrated using a panel of antigen-negative cells
3. 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

1. The user is responsible for the performance of the reagents by any method other than those mentioned in the **Recommended Techniques**.
2. Any deviations from the **Recommended Techniques** should be validated prior to use⁵.

BIBLIOGRAPHY

1. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 186.
2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 13.
3. AABB Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
4. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6th Edition 2002. The Stationary Office.
5. 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-k (cellano)	2 ml	325002	40
Monoclonal	1000 ml	325000*	20,000

*This size is For Further Manufacturing Use (FFMU) only 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

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



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.

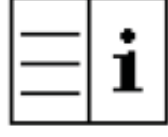
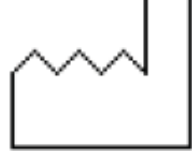
AMBALAJUL OFERIT

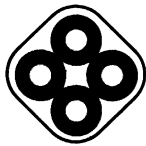
	Volumul flaconului	Număr de catalog
Anti-C Monoclonal	5 ml	690005
	1000 ml	690000*
Anti-E Monoclonal	5 ml	691005
	1000 ml	691000*
Anti-c Monoclonal	5 ml	692005
	1000 ml	692000*
Anti-e Monoclonal	5 ml	693005
	1000 ml	693000*

* 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 BATCH NUMBER
	Referința în catalog CATALOG REFERENCE
	Data de expirare EXPIRY DATE
	A se citi manualul de utilizare READ PACK INSERT
	Diagnosticarea in vitro IN-VITRO DIAGNOSTICS
	A se păstra la STORE AT
	Producătorul 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: R₁R (positive control) and rr (negative control).
Monoclonal Anti-E: R₂R (positive control) and rr (negative control).
Monoclonal Anti-c: R₁R (positive control) and R₁R₁ (negative control).
Monoclonal Anti-e: R₂R (positive control) and R₂R₂ (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 R₂R₂ individuals. Similarly, Anti-e may give slightly weaker reactions in absence of C antigen, e.g. R₂r, r⁺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 use⁵.

BIBLIOGRAPHY

- Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition, Montgomery Scientific, Miami, 1985, Chapter 10.
- AABB Technical Manual, 16th 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, 6th 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

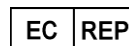
	Vial Size	Catalogue Number	Tests per vial
Anti-C Monoclonal	5 ml	690005	100
	1000 ml	690000*	20,000
Anti-E Monoclonal	5 ml	691005	100
	1000 ml	691000*	20,000
Anti-c Monoclonal	5 ml	692005	100
	1000 ml	692000*	20,000
Anti-e Monoclonal	5 ml	693005	100
	1000 ml	693000*	20,000

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

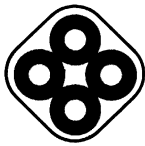


Lorne Laboratories Limited

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, 2nd Flr.,
Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta



MONOCLONAL BLOOD GROUPING REAGENTS DIRECTIONS FOR USE

Anti-S and Anti-s Monoclonal: For Indirect Antiglobulin Techniques.

SUMMARY

The S and s antigens were reported in 1947 and 1951 respectively and form part of the MNS system. Anti-S and anti-s have both been implicated in Haemolytic Transfusion Reactions and Haemolytic Disease of the Newborn.

Anti-S	Anti-s	Phenotype	Caucasians ¹	Afro-Americans ¹
+	0	S+s-	11%	6%
+	+	S+s+	44%	25%
0	+	S-s+	45%	68%
0	0	S-s-	0%	1.5%

INTENDED USE

The reagents are blood grouping reagents intended to be used to qualitatively determine the presence or absence of the S or s antigen 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 S or s antigen on human red cells and will cause indirect agglutination (clumping) of human red cells, that carry the corresponding specific antigen, in the antiglobulin phase of testing. No agglutination (clumping) generally indicates the absence of the corresponding specific antigen (see **Limitations**).

REAGENTS

These Monoclonal IgG blood grouping reagents contain human monoclonal antibodies diluted in a phosphate buffer containing sodium chloride and bovine albumin. 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 the recommended techniques stated below without the need for further dilution or addition. For lot reference number and expiry date see **Vial Label**.

Product	Cell Line/Clone
Anti-S	P3S13JS123
Anti-s	P3YAN3

STORAGE

Do not freeze. 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

- The reagents are intended for *in vitro* diagnostic use only.
- If a reagent vial is cracked or leaking, discard the contents immediately.
- Do not use the reagents past the expiration date (see **Vial Label**).
- Do not use the reagents if a precipitate is present.
- Protective clothing should be worn when handling the reagents, such as disposable gloves and a laboratory coat.
- 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.
- 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.
- Materials used to produce the reagents were tested at source and found to be negative for HIV 1+2 and HCV antibodies and HBsAg using approved microbiological tests.
- 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 reagents and decontamination of a spillage site see **Material Safety Data Sheets**, available on request.

CONTROLS AND ADVICE

- It is recommended a positive control (ideally heterozygous cells) 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.
- The antiglobulin techniques can only be considered valid if all negative tests react positively with IgG sensitised red cells.
- 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.
- In the **Tube Technique** one volume is approximately 50µl when using the vial dropper provided.
- The use of the reagents and the interpretation of results must be carried out by properly trained and qualified personnel in accordance with the requirements of the country where the reagents are in use.
- The user must determine the suitability of the reagents for use in other techniques.

REAGENTS AND MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Tube Technique

- Anti-human globulin i.e. Lorne AHG Elite (Cat # 435010 or 415010) or Anti-Human IgG i.e. Lorne Anti-Human IgG (Cat # 402010 or 401010).
- Coombs cell washer.
- Glass test tubes (10 x 75 mm or 12 x 75 mm).
- PBS solution (pH 6.8-7.2) or Isotonic saline solution (pH 6.5-7.5).
- IgG sensitised red cells i.e. Lorne Coombs Control Cells (Cat # 970010).
- Positive (ideally heterozygous) and negative control red cells.
- Water bath or dry heat incubator equilibrated to 37°C ± 2°C.

Bio-Rad-ID Micro Typing Technique

- Bio-Rad ID-Cards (LISS/Coombs or Coombs Anti-IgG).
- Bio-Rad ID-Centrifuge.
- Bio-Rad ID-CellStab or ID-Diluent 2.
- Bio-Rad ID-Incubator equilibrated to 37°C ± 2°C.

Ortho BioVue Typing Technique

- Ortho BioVue System Cassettes (AHG Polyspecific or AHG Anti-IgG).
- Ortho BioVue System Centrifuge.
- Ortho BioVue System Heat Block equilibrated to 37°C ± 2°C.
- Ortho 0.8% Red Cell Diluent.

All Techniques

- Volumetric pipettes.

RECOMMENDED TECHNIQUES

A. Indirect Antiglobulin Technique (IAT)

- Prepare a 2-3% suspension of red cells in PBS or Isotonic saline.
- Place in a labelled test tube: 1 volume of Lorne reagent and 1 volume of red cell suspension.
- Mix thoroughly and incubate at 37°C for 15 minutes.
- Wash red cells 1 time with PBS or Isotonic saline, taking care to completely decant saline after the wash.
- Add 2 volumes of anti-human globulin or anti-IgG to each dry cell button.
- Mix thoroughly and centrifuge all tubes for 20 seconds at 1000 rcf or for a suitable alternative time and force.
- Gently resuspend red cell button and read macroscopically for agglutination.
- Confirm validity of all negative reactions with IgG sensitised red cells.

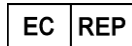
B. Bio-Rad-ID Technique (LISS/Coombs cards)

- Prepare a 0.8% suspension of red cells in the ID-Diluent or ID-Diluent 2.
- Remove aluminium foil from as many microtubes on either LISS/Coombs or Coombs Anti-IgG ID-Card(s) as needed.
- Place in appropriate microtube: 50µl of red cell suspension and 25µl of Lorne reagent.
- Incubate the LISS/Coombs ID-Card(s) for 15 minutes at 37°C.
- Centrifuge the LISS/Coombs ID-Card(s) in the Bio-Rad ID-Card centrifuge.
- Read macroscopically for agglutination.

C. Ortho BioVue Technique (AHG cassettes)

- Prepare a 0.8% suspension of red cells in 0.8% Ortho Red Cell Diluent.
- Remove aluminium foil from as many reaction chambers on either AHG Polyspecific or AHG Anti-IgG cassettes as needed.
- Place in appropriate reaction chamber: 50µl of red cell suspension and 40µl of Lorne reagent.

4. Incubate the cassette(s) for 15 minutes at 37°C.
5. Centrifuge cassette(s) in an Ortho BioVue System Centrifuge.
6. Read macroscopically for agglutination.



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

INTERPRETATION OF TEST RESULTS

1. **Positive:** Agglutination of the red cells constitutes a positive test result and within accepted limitations of test procedure, indicates the presence of the appropriate antigen on the red cells.
2. **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 antigen on the red cells.

STABILITY OF THE REACTIONS

1. Washing steps should be completed without interruption and tests centrifuged and read immediately after addition of the reagent. Delays may result in dissociation of antigen-antibody complexes, causing false negative or weak positive results.
2. Caution should be exercised in the interpretation of results of tests performed at temperatures other than those **recommended**.

LIMITATIONS

1. Red cells that have a positive DAT due to a coating of IgG cannot be typed by the **Indirect Antiglobulin Technique**.
2. Suppressed or diminished expression of certain blood group antigens may conversely give rise to false negative reactions and so caution should always be exercised when assigning genotypes on the basis of test results.
3. 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

1. Prior to release, each lot of 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".
2. Specificity of source monoclonal antibodies is demonstrated using a panel of antigen-negative cells
3. 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

1. The user is responsible for the performance of the reagents by any method other than those mentioned in the **Recommended Techniques**.
2. Any deviations from the **Recommended Techniques** should be validated prior to use⁵.

BIBLIOGRAPHY

1. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 190.
2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 14.
3. AABB Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
4. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6th Edition 2002. The Stationary Office.
5. 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.

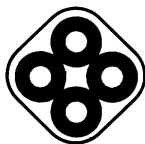
AVAILABLE REAGENT SIZES

	Vial Size	Catalogue Number	Tests per vial
Anti-S Monoclonal	2 ml	770002	40
	1000 ml	770000*	20,000
Anti-s Monoclonal	2 ml	771002	40
	1000 ml	771000*	20,000

*This size is For Further Manufacturing Use (FFMU) only 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



MONOCLONAL BLOOD GROUPING REAGENTS DIRECTIONS FOR USE

Anti-Jk^a and Anti-Jk^b Monoclonal: For Tube Technique.

SUMMARY

The Jk^a and Jk^b antigens were reported in 1951 and 1953 respectively. Anti-Jk^a and anti-Jk^b can both show dosage and are notorious for their evanescence: antibody titres that rise after stimulation but quickly drop, often to undetectable levels. Kidd system antibodies have been implicated in delayed and immediate Haemolytic Transfusion Reactions and Haemolytic Disease of the Newborn.

Anti-Jk ^a	Anti-Jk ^b	Phenotype	Caucasians ¹	Afro-Americans ¹
+	0	Jk(a+b-)	26.3%	51.1%
+	+	Jk(a+b+)	50.3%	40.8%
0	+	Jk(a-b+)	23.4%	8.1%
0	0	Jk(a-b-)	Rare	Rare

INTENDED PURPOSE

The Kidd reagents are blood grouping reagents intended to be used to qualitatively determine the presence or absence of the Jka or Jkb antigen 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 against the Jka or Jkb antigen on human red cells and cause direct agglutination (clumping) of human red cells that carry the Jka and/or Jkb antigen. No agglutination (no clumping) indicates the absence of the Jka and/or Jkb antigen on human red cells (see **Limitations**).

REAGENTS

Lorne Monoclonal Anti-Jka and Anti-Jkb grouping reagents contain human monoclonal IgM antibodies, diluted in a phosphate buffer containing sodium chloride and bovine albumin. Anti-Jk^a contains an antibody of the cell line P3HT7 and Anti-Jk^b contains an antibody of the cell line P3143. 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 the need for further dilution or addition. For lot reference number and expiry date see **Vial Label**.

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 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 bioburden but are not supplied sterile. Once a vial has been opened the contents should remain viable up until the expiry date.
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 reagents 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 reagents and decontamination of a spillage site see **Safety Data Sheets**, available on request.

CONTROLS AND ADVICE

1. A positive control (ideally heterozygous cells) and a negative control shall 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 a patient who is diagnosed with a disease that causes the red cells to become coated with antibody or other proteins (such as HDN, AIHA), it is important to test the patient's red cells using Lorne's Negative Control (catalogue # 650010). Tests must be considered invalid if red cells are agglutinated using Lorne's Negative Control.
3. 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.
4. In the **Tube Technique** one volume is approximately 50µl when using the vial dropper provided.
5. Use of the reagents and the 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 the suitability of the reagents for use in other techniques.

REAGENTS AND MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Glass test tubes (10 x 75 mm or 12 x 75 mm).
- Test tube centrifuge.
- PBS solution (pH 6.8-7.2) or Isotonic saline solution (pH 6.5-7.5).
- Positive (ideally heterozygous) and negative control red cells.
- Volumetric pipettes.

RECOMMENDED TECHNIQUES

A. Tube Technique

1. Prepare a 2-3% suspension of red test cells in PBS or Isotonic saline (see **point 3 in Limitations**).
2. Place in a labelled test tube: 1 volume of Lorne reagent and 1 volume of red cell suspension.
3. Mix thoroughly and incubate at room temperature for 5 minutes.
4. Centrifuge all tubes for 20 seconds at 1000 rcf or for a suitable alternative time and force.
5. Gently resuspend red cell button and read macroscopically for agglutination.

INTERPRETATION OF TEST RESULTS

1. **Positive:** Agglutination of the test red cells constitutes a positive test result and within accepted limitations of test procedure, indicates the presence of the appropriate Kidd antigen on the test red cells.
2. **Negative:** No agglutination of the test red cells constitutes a negative result and within the accepted limitations of the test procedure, indicates the absence of the appropriate Kidd antigen on the test red cells.
3. 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

1. The tube tests should be read immediately after centrifugation. Delays may result in dissociation of antigen-antibody complexes leading to false negative, or weak positive reactions.
2. Caution should be exercised in the interpretation of results of tests performed at temperatures other than those **recommended**.

LIMITATIONS

1. Suppressed or diminished expression of certain blood group antigens may conversely give rise to false negative reactions and so caution should always be exercised when assigning phenotypes on the basis of test results.
2. Lorne's Anti-Kidd monoclonal reagents are not suitable for use with Bio-Rad or Ortho BioVue gel cards.
3. Lorne's Anti-Jkb monoclonal reagent was found to give false positive reactions when testing red cells that are suspended in low ionic strength diluents (such as LISS, Ortho's 0.8% Red Cell Diluent, Bio-Rad's ID-CellStab and Bio-Rad's ID-Diluent 2). When typing red cells that are suspended in a low ionic strength diluent, wash the cells at least twice with PBS to remove any traces of the diluent before re-suspending the cells in PBS/Isotonic Saline or any other normal ionic strength diluent.
4. Lorne Anti-Kidd monoclonal reagents are not suitable for use with enzyme treated cells or for use in indirect antiglobulin techniques.
5. 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

1. Prior to release, each lot of 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".
2. The performance characteristics of the reagents are as follows:
 - Anti-Jka reagent → Sensitivity: 100%, Specificity: 100%
 - Anti-Jkb reagent → Sensitivity: 100%, Specificity: 100%
3. 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

1. The end user is responsible for the performance of the reagents by any method other than those mentioned in the **Recommended Techniques**.
2. Any deviations from the **Recommended Techniques** should be validated prior to use⁶.

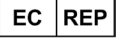
BIBLIOGRAPHY

1. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 181.
2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6.
3. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6th Edition 2002. The Stationary Office.
4. AABB Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
5. 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-Jk ^a Monoclonal	2 ml	775002	40
Anti-Jk ^b Monoclonal	2 ml	776002	40

TABLE OF SYMBOLS

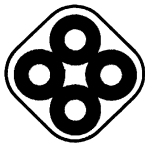
Symbol	Definition	Symbol	Definition
	Manufacturer		Catalogue number
	Temperature limitation		Use by YYYY-MM-DD
	In vitro diagnostic medical device		Consult instructions for use.
	Authorised Representative		Lot number
	CE symbol		



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, 2nd Flr.,
Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta



REACTIVI MONOCLONALI PENTRU DETERMINAREA GRUPEI SANGUINE
INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

Anti-Fy^a Monoclonal: Pentru tehnici indirecte cu antiglobulină.

REZUMAT

Antigenele Fy^a și Fy^b au fost descoperite în 1950 și 1951 respectiv. Atât Anti-Fy^a, cât și Anti-Fy^b au avut legătură cu reacții hemolitice imediate și întârziate la transfuzii și cu boala hemolitică a nou-născutului.

Anti-Fy ^a	Anti-Fy ^b	Fenotip	Caucazieni %	Afro-americani %
+	0	Fy(a+b-)	17	9
0	+	Fy(a-b+)	34	22
+	+	Fy(a+b+)	49	1
0	0	Fy(a-b-)	Foarte rar	68

SCOPUL PROPUȘ

Este un reactiv pentru determinarea grupe sanguine destinat a fi folosit pentru a determina calitativ prezența sau absența antigenului Fy(a) (FY001) pe globulele roșii ale donatorilor de sânge sau ale pacienților care au nevoie de o transfuzie sanguină în cazul testării conform tehnicilor recomandate și prezentate în aceste instrucțiuni de utilizare.

PRINCIPIUL

Reactivul va provoca aglutinarea (aglomerarea) indirectă a globulelor roșii, care transportă antigenul Fy(a), în faza testului antiglobulinic. Neaglutinarea indică, în general, absența antigenului Fy(a) (consultați **Limitări**).

REACTIVI

Acest reactiv monoclonal IgG pentru determinarea grupe sanguine conține anticorpi monoclonali umani diluați într-un tampon fosfat care conține clorură de sodiu și albumină bovină. Reactivul nu conține sau nu este compus din substanțe CMR, substanțe perturbatoare pentru sistemul endocrin sau care ar putea provoca sensibilizare sau o reacție alergică în cazul utilizatorului. Reactivul este furnizat la diluarea optimă pentru utilizare cu toate tehnicile recomandate prezentate mai jos, fără să mai fie necesară diluarea sau adăugarea suplimentară. Pentru numărul de referință al lotului și data de expirare, consultați **Eticheta flaconului**.

Produs	Linie celulară/Clonă
Anti-Fy ^a	DG-FYA-02

DEPOZITARE

A nu se congela. Flacoanele cu reactiv trebuie depozitate la temperaturi cuprinse între 2 și 8 °C după primire. Depozitarea prelungită la temperaturi în afara acestui interval poate duce la pierderea accelerată a reactivității. Acest reactiv a fost supus unor studii de stabilitate la transport la 37 °C și -25 °C, conform precizărilor din documentul BS EN ISO 23640:2015.

RECOLTAREA ȘI PREGĂTIREA PROBEI

Probele de sânge pot fi recoltate în EDTA, citrat, anticoagulanți CPDA sau ca probă coagulată. Probele trebuie testate cât mai curând posibil după recoltare. Dacă survine o întârziere în ce privește testarea, păstrați probele la 2-8 °C. Probele care prezintă o hemoliză intensă sau o contaminare microbiană nu trebuie utilizate pentru testare. Probele de sânge care prezintă semne de liză pot conduce la rezultate neconcludente. Este de preferat (dar nu esențial) să spălați toate probele de sânge cu PBS sau soluție salină izotonă înainte de testare.

PRECAUȚII

- Reactivii sunt destinați exclusiv diagnosticului *in vitro*.
- Dacă un flacon cu reactiv este crăpat sau curge, aruncați conținutul imediat.
- Nu folosiți reactivii după data de expirare (consultați **Eticheta flaconului**).
- Nu folosiți reactivii dacă observați că s-a format un precipitat.
- Purtați echipament de protecție când manipulați reactivii, cum ar fi mănuși de unică folosință și un halat de laborator.
- Reactivii au fost filtrați printr-o membrană de 0,2 μm pentru a reduce încărcătura biologică, dar nu este livrat steril. După deschiderea flaconului, reactivul poate fi folosit până la data de expirare dacă nu se observă o turbiditate marcată, care ar putea indica deteriorarea sau contaminarea reactivului.
- Reactivii conțin < 0,1% de azidă de sodiu. Azida de sodiu poate fi toxică dacă este ingerată și poate reacționa cu conductele din plumb sau cupru formând azide metalice explozive. La eliminare, spălați cu cantități mari de apă.
- Materialele utilizate pentru producerea reactivilor au fost testate la sursă și au indicat un rezultat negativ pentru anticorpii HIV 1+2 și HCV, și HBsAg în cadrul unor teste microbiologice aprobate.
- Nu se cunosc teste care să garanteze faptul că produsele derivate din surse umane sau animale nu prezintă agenți infecțioși. Fiți atenți când utilizați și când eliminați un flacon și conținutul acestuia.

ELIMINAREA REACTIVULUI ȘI CUM SE ACȚIONEAZĂ ÎN CAZ DE STROPIRE

Pentru informații privind eliminarea reactivilor și metodele de decontaminare a unui loc în caz de stropire, consultați **Fișele cu date de securitate ale materialului**, disponibile la cerere.

MARTORI ȘI RECOMANDĂRI

- Se recomandă testarea în paralel a unui martor pozitiv (ideal, celule heterozigote) și a unui martor negativ cu fiecare lot de teste. Testele trebuie considerate nevalide dacă probele martor nu prezintă rezultatele prevăzute.
- Tehnicile antiglobulinice pot fi considerate valide numai dacă toate testele negative reacționează pozitiv cu globulele roșii sensibilizate cu IgG.
- Înainte de utilizare, lăsați reactivul să ajungă la temperatura camerei. Imediat după utilizare, depozitați reactivul înapoi la o temperatură cuprinsă între 2 și 8 °C.
- În **Tehnica cu eprubetă**, un volum reprezintă aproximativ 50 μl cu pipeta flaconului furnizată.
- Utilizarea reactivilor și interpretarea rezultatelor trebuie efectuate de personal calificat și instruit în mod corespunzător în conformitate cu cerințele țării în care se utilizează reactivii.
- Utilizatorul trebuie să stabilească în ce măsură se pot utiliza reactivii în alte tehnici.

REACTIVI ȘI MATERIALE NECESARE

- Antiglobulină umană, adică Lorne AHG Elite (Cat # 435010 sau 415010) sau Anti-IgG umană, adică Anti-Human IgG Lorne (Cat # 402010 sau 401010).
- Spălător de celule Coombs.
- Cartele ID Bio-Rad (LISS/Coombs sau Coombs Anti-IgG).
- Centrifugă ID Bio-Rad.
- ID-CellStab sau ID-Diluent 2 Bio-Rad.
- Incubator ID Bio-Rad echilibrat la 37 °C ± 2 °C.
- Eprubete de sticlă (10 x 75 mm sau 12 x 75 mm).
- Globule roșii sensibilizate cu IgG, adică celule de control Coombs Lorne (Cat # 970010).
- Casete sistem Ortho BioVue (Polispecifice AHG sau AHG Anti-IgG).
- Centrifugă sistem Ortho BioVue.
- Bloc termic sistem Ortho BioVue echilibrat la 37 °C ± 2 °C.
- Diluant globule roșii 0,8% Ortho.
- Soluție PBS (pH 6,8–7,2) sau soluție salină izotonă (pH 6,5–7,5).
- Globule roșii martor pozitiv (ideal heterozigote) și negativ.
- Pipete volumetrice.
- Baie de apă sau incubator cu căldură uscată echilibrată la 37 °C ± 2 °C.

TEHNICI RECOMANDATE

A. Tehnica indirectă cu antiglobulină (IAT)

- Pregătiți o suspensie de 2-3% din globulele roșii în PBS sau soluție salină izotonă.
- Puneți într-o eprubetă etichetată: 1 volum de reactiv Lorne și 1 volum de suspensie de globule roșii.
- Amestecați bine și incubați la 37 °C timp de 15 minute.
- Spălați globulele roșii o dată cu PBS sau soluție salină izotonă, având grijă să decantați soluția salină după spălare.
- Adăugați 2 volume de antiglobulină umană sau anti-IgG la fiecare buton de celule uscate.
- Amestecați temeinic și centrifugați toate eprubetele timp de 20 de secunde la 1000 rcf sau la un alt raport adecvat între timp și forță.
- Resuspendați ușor butonul de hematii și efectuați citirea macroscopică pentru aglutinare.
- Confirmați validitatea tuturor reacțiilor negative cu globulele roșii sensibilizate cu IgG.

B. Tehnica ID Bio-Rad (cartele LISS/Coombs)

- Pregătiți o suspensie de 0,8% din globulele roșii în ID-CellStab sau ID-Diluent 2.
- Îndepărtați folia de aluminiu de pe cât mai multe microeprubete de la cartela(ele) ID LISS/Coombs sau Coombs Anti-IgG, după cum este necesar.
- Puneți în microeprubeta corespunzătoare: 50 μl de suspensie de globule roșii și 25 μl de reactiv Lorne.
- Incubați cartela(ele) ID LISS/Coombs timp de 15 minute la 37 °C.
- Centrifugați cartela(ele) ID LISS/Coombs în centrifuga pentru cartele ID Bio-Rad.
- Efectuați citirea macroscopică pentru aglutinare.

C. Tehnica Ortho BioVue (Casete AHG)

1. Pregătiți o suspensie de 0,8% din globulele roșii în diluant de globule roșii Ortho 0,8%.
2. Îndepărtați folia de aluminiu de pe cât mai multe camere de reacție de la casetele polispecifice AHG sau AHG Anti-IgG, după cum este necesar.
3. Puneți în camera de reacție corespunzătoare: 50 µl de suspensie de globule roșii și 40 µl de reactiv Lorne.
4. Incubați caseta(ele) timp de 15 minute la 37 °C.
5. Centrifugați caseta(ele) într-o centrifugă de sistem Ortho BioVue.
6. Efectuați citirea macroscopică pentru aglutinare.

INTERPRETAREA REZULTATELOR TESTULUI

1. **Pozitiv:** Aglutinarea globulelor roșii constituie un rezultat pozitiv și, în limitele acceptate ale procedurii de testare, indică prezența antigenului corespunzător pe globulele roșii.
2. **Negativ:** Neaglutinarea globulelor roșii constituie un rezultat negativ și, în limitele acceptate ale procedurii de testare, indică absența antigenului corespunzător pe globulele roșii.

STABILITATEA REACȚIILOR

1. Etapele de spălare trebuie finalizate fără întrerupere, iar probele trebuie centrifugate și citite imediat după adăugarea reactivului. Orice întârziere poate duce la disocierea complexelor antigen-anticorp, generând rezultate fals negative sau slab pozitive.
2. Aveți grijă la interpretarea rezultatelor testelor efectuate la alte temperaturi decât cele **recomandate**.

LIMITĂRI

1. Globulele roșii care au un test antiglobulinic direct (DAT) pozitiv din cauza acoperirii cu IgG nu pot fi tipizate prin **Tehnica indirectă cu antiglobulină**.
2. În schimb, expresia suprimată sau slăbită a anumitor antigene de grup sanguin poate să genereze reacții fals negative deci trebuie să fiți întotdeauna atenți când atribuiți genotipuri pe baza rezultatelor testului.
3. Rezultatele fals pozitive sau fals negative pot fi generate și de:
 - Contaminarea materialelor folosite în testare
 - Depozitarea, concentrația celulară, timpul sau temperatura de incubare necorespunzătoare
 - Centrifugarea necorespunzătoare sau excesivă
 - Abaterea de la tehnicile recomandate

CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ SPECIFICE

1. Înainte de a fi pus pe piață, fiecare lot de reactiv a fost testat conform metodelor de testare recomandate și enumerate în aceste instrucțiuni de utilizare. Testele corespund cerințelor de testare prezentate în numărul/versiunea curentă a „Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom” (Orientări pentru Serviciile de transfuzii sanguine din Regatul Unit).
2. Specificitatea anticorpilor monoclonali este demonstrată cu ajutorul unui panou de celule cu antigen negativ
3. Controlul calității reactivilor a fost efectuat cu globule roșii cu fenotipuri care au fost verificate de un centru pentru transfuzii sanguine din Regatul Unit și care au fost spălate cu PBS sau soluție salină izotonă înainte de utilizare.

DECLINAREA RESPONSABILITĂȚII

1. Utilizatorul este singurul responsabil pentru performanța reactivilor în cazul utilizării altor metode decât cele menționate în **Tehnicile recomandate**.
2. Orice abatere de la **Tehnicile recomandate** trebuie validată înainte de utilizare⁶.

BIBLIOGRAFIE

1. Widman FK. Technical Manual, 9th Edition. American Association of Blood Banks, Arlington, VA, 1985; capitolul 8
2. Race RR, Sanger R. Blood Groups in Man, 6th Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1975; capitolul 2
3. Mollison PL. Blood Transfusion in Clinical Medicine, 8th Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1987; capitolul 7
4. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; capitolul 6
5. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. H.M.S.O. Ediția curentă.
6. 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.

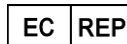
DIMENSIUNI REACTIV DISPONIBILE

	Mărime flacon	Număr de catalog	Teste per flacon
Anti-Fy ^a Monoclonal	2 ml	774002	40
	1000 ml	774000*	20.000

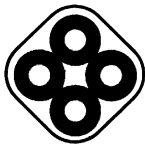
*Această mărime este valabilă numai pentru utilizare de fabricație suplimentară (FFMU) și, prin urmare, nu are marcajul CE.



Lorne Laboratories Limited
Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate
Danehill
Lower Earley
Berkshire, RG6 4UT
Regatul Unit
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



MONOCLONAL BLOOD GROUPING REAGENTS
DIRECTIONS FOR USE

Anti-Fy^a Monoclonal: For Indirect Antiglobulin Techniques.

SUMMARY

The Fy^a and Fy^b antigens were reported in 1950 and 1951 respectively. Anti-Fy^a and anti-Fy^b have both been implicated in immediate and delayed Haemolytic Transfusion Reactions and Haemolytic Disease of the Newborn.

Anti-Fy ^a	Anti-Fy ^b	Phenotype	Caucasians %	Afro-Americans %
+	0	Fy(a+b-)	17	9
0	+	Fy(a-b+)	34	22
+	+	Fy(a+b+)	49	1
0	0	Fy(a-b-)	Very Rare	68

INTENDED PURPOSE

The reagent is a blood grouping reagent intended to be used to qualitatively determine the presence or absence of the Fy(a) antigen (FY001) 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 reagent will cause indirect agglutination (clumping) of red cells, that carry the Fy(a) antigen, in the antiglobulin phase of testing. No agglutination generally indicates the absence of the Fy(a) antigen (see **Limitations**).

REAGENTS

This Monoclonal IgG blood grouping reagent contains human monoclonal antibodies diluted in a phosphate buffer containing sodium chloride and bovine albumin. The reagent does not contain or consist of CMR substances, or endocrine disrupting substances or that could result in sensitisation or an allergic reaction by the user. The reagent is supplied at optimal dilution for use with all the recommended techniques stated below without the need for further dilution or addition. For lot reference number and expiry date see **Vial Label**.

Product	Cell Line/Clone
Anti-Fya	DG-FYA-02

STORAGE

Do not freeze. 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

- The reagents are intended for *in vitro* diagnostic use only.
- If a reagent vial is cracked or leaking, discard the contents immediately.
- Do not use the reagents past the expiration date (see **Vial Label**).
- Do not use the reagents if a precipitate is present.
- Protective clothing should be worn when handling the reagents, such as disposable gloves and a laboratory coat.
- 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.
- 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.
- Materials used to produce the reagents were tested at source and found to be negative for HIV 1+2 and HCV antibodies and HBsAg using approved microbiological tests.
- 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 reagents and decontamination of a spillage site see **Material Safety Data Sheets**, available on request.

CONTROLS AND ADVICE

- It is recommended a positive control (ideally heterozygous cells) 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.
- The antiglobulin techniques can only be considered valid if all negative tests react positively with IgG sensitised red cells.
- 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.
- In the **Tube Technique** one volume is approximately 50µl when using the vial dropper provided.
- The use of the reagents and the interpretation of results must be carried out by properly trained and qualified personnel in accordance with the requirements of the country where the reagents are in use.
- User must determine suitability of the reagents for use in other techniques.

REAGENTS AND MATERIALS REQUIRED

- Anti-human globulin i.e. Lorne AHG Elite (Cat # 435010 or 415010) or Anti-Human IgG i.e. Lorne Anti-Human IgG (Cat # 402010 or 401010).
- Coombs cell washer.
- Bio-Rad ID-Cards (LISS/Coombs or Coombs Anti-IgG).
- Bio-Rad ID-Centrifuge.
- Bio-Rad ID-CellStab or ID-Diluent 2.
- Bio-Rad ID-Incubator equilibrated to 37°C ± 2°C.
- Glass test tubes (10 x 75 mm or 12 x 75 mm).
- IgG sensitised red cells i.e. Lorne Coombs Control Cells (Cat # 970010).
- Ortho BioVue System Cassettes (AHG Polyspecific or AHG Anti-IgG).
- Ortho BioVue System Centrifuge.
- Ortho BioVue System Heat Block equilibrated to 37°C ± 2°C.
- Ortho 0.8% Red Cell Diluent.
- PBS solution (pH 6.8-7.2) or Isotonic saline solution (pH 6.5-7.5).
- Positive (ideally heterozygous) and negative control red cells.
- Volumetric pipettes.
- Water bath or dry heat incubator equilibrated to 37°C ± 2°C.

RECOMMENDED TECHNIQUES

A. Indirect Antiglobulin Technique (IAT)

- Prepare a 2-3% suspension of red cells in PBS or Isotonic saline.
- Place in a labelled test tube: 1 volume of Lorne reagent and 1 volume of red cell suspension.
- Mix thoroughly and incubate at 37°C for 15 minutes.
- Wash red cells 1 time with PBS or Isotonic saline, taking care to decant saline after the wash.
- Add 2 volumes of anti-human globulin or anti-IgG to each dry cell button.
- Mix thoroughly and centrifuge all tubes for 20 seconds at 1000 rcf or for a suitable alternative time and force.
- Gently resuspend red cell button and read macroscopically for agglutination.
- Confirm validity of all negative reactions with IgG sensitised red cells.

B. Bio-Rad ID Technique (LISS/Coombs cards)

- Prepare a 0.8% suspension of red cells in ID-CellStab or ID-Diluent 2.
- Remove aluminium foil from as many microtubes on either LISS/Coombs or Coombs Anti-IgG ID-Card(s) as needed.
- Place in appropriate microtube: 50µl of red cell suspension and 25µl of Lorne reagent.
- Incubate the LISS/Coombs ID-Card(s) for 15 minutes at 37°C.
- Centrifuge the LISS/Coombs ID-Card(s) in the Bio-Rad ID-Card centrifuge.
- Read macroscopically for agglutination.

C. Ortho BioVue Technique (AHG cassettes)

- Prepare a 0.8% suspension of red cells in 0.8% Ortho Red Cell Diluent.
- Remove aluminium foil from as many reaction chambers on either AHG Polyspecific or AHG Anti-IgG cassettes as needed.
- Place in appropriate reaction chamber: 50µl of red cell suspension and 40µl of Lorne reagent.
- Incubate the cassette(s) for 15 minutes at 37°C.
- Centrifuge cassette(s) in an Ortho BioVue System Centrifuge.
- Read macroscopically for agglutination.

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 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 antigen on the red cells.

STABILITY OF THE REACTIONS

1. Washing steps should be completed without interruption and tests centrifuged and read immediately after addition of the reagent. Delays may result in dissociation of antigen-antibody complexes, causing false negative or weak positive results.
2. Caution should be exercised in the interpretation of results of tests performed at temperatures other than those **recommended**.

LIMITATIONS

1. Red cells that have a positive DAT due to a coating of IgG cannot be typed by the **Indirect Antiglobulin Technique**.
2. Suppressed or diminished expression of certain blood group antigens may conversely give rise to false negative reactions and so caution should always be exercised when assigning genotypes on the basis of test results.
3. 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

1. Prior to release, each lot of 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".
2. Specificity of source monoclonal antibodies is demonstrated using a panel of antigen-negative cells
3. 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

1. The user is responsible for the performance of the reagents by any method other than those mentioned in the **Recommended Techniques**.
2. Any deviations from the **Recommended Techniques** should be validated prior to use⁶.

BIBLIOGRAPHY

1. Widman FK. Technical Manual, 9th Edition. American Association of Blood Banks, Arlington, VA, 1985; Chapter 8
2. Race RR, Sanger R. Blood Groups in Man, 6th Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1975; Chapter 2
3. Mollison PL. Blood Transfusion in Clinical Medicine, 8th Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1987; Chapter 7
4. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6
5. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. H.M.S.O. Current Edition.
6. 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

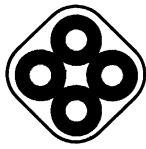
	Vial Size	Catalogue Number	Tests per vial
Anti-Fya	2 ml	774002	40
Monoclonal	1000 ml	774000*	20,000

*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

EC	REP	Advena Ltd. Tower Business Centre, 2 nd Fl., Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta
----	-----	--



REACTIVI UMANI PENTRU DETERMINAREA GRUPELOR SANGUINE INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

Anti-Fy^b policlonal: Pentru tehnici indirecte cu antiglobulină.

REZUMAT

Antigenele Fy^a și Fy^b au fost descoperite în 1950 și 1951 respectiv. Anti-Fy^b a avut legătură cu reacții hemolitice imediate și întârziate la transfuzii și cu boala hemolitică a nou-născutului.

Anti-Fy ^a	Anti-Fy ^b	Fenotip	Caucazieni ¹	Afro-americani ¹
+	0	Fy(a+b-)	17%	9%
0	+	Fy(a-b+)	34%	22%
+	+	Fy(a+b+)	49%	1%
0	0	Fy(a-b-)	Rar	68

SCOPUL PROPUȘ

Este un reactiv pentru determinarea grupei sanguine destinat a fi folosit pentru a determina calitativ prezența sau absența antigenului Fy^b (FY2) pe globulele roșii ale donatorilor de sânge sau ale pacienților care au nevoie de o transfuzie sanguină în cazul testării conform tehnicilor recomandate și prezentate în aceste instrucțiuni de utilizare.

PRINCIPIUL

Reactivul conține anticorpi la antigenul Fy^b de pe globulele roșii umane și va provoca aglutinarea (aglomerarea) indirectă a globulelor roșii umane purtătoare ale antigenului Duffy b corespunzător, în faza testului antiglobulinic. Neaglutinarea (neaglomerarea) indică, în general, absența antigenului Duffy b corespunzător (consultați **Limitări**).

REACTIVI

Reactivul pentru determinarea grupei sanguine Human Anti-Fy^b a lui Lorne este preparat din ser uman diluat într-o soluție de clorură de sodiu care conține potențiatori macromoleculari (1,9 g%) și albumină bovină. Reactivii nu conțin sau nu sunt compuși din substanțe CMR, substanțe perturbatoare pentru sistemul endocrin sau care ar putea provoca sensibilizare sau o reacție alergică în cazul utilizatorului. Fiecare reactiv este furnizat la diluarea optimă pentru utilizare cu toate tehnicile recomandate prezentate mai jos, fără să mai fie necesară diluarea sau adăugarea suplimentară. Pentru numărul de referință al lotului și data de expirare, consultați **Eticheta flaconului**.

DEPOZITARE

Flacoanele cu reactiv trebuie depozitate la temperaturi cuprinse între 2 și 8 °C după primire. Depozitarea prelungită la temperaturi în afara acestui interval poate duce la pierderea accelerată a reactivității. Acest reactiv a fost supus unor studii de stabilitate la transport la 37 °C și -25 °C, conform precizărilor din documentul BS EN ISO 23640:2015.

RECOLTAREA ȘI PREGĂTIREA PROBEI

Probele de sânge pot fi recoltate în EDTA, citrat, anticoagulanți CPDA sau ca probă coagulată. Probele trebuie testate cât mai curând posibil după recoltare. Dacă survine o întârziere în ce privește testarea, păstrați probele la 2-8 °C. Probele care prezintă o hemoliză intensă sau o contaminare microbiană nu trebuie utilizate pentru testare. Probele de sânge care prezintă semne de liză pot conduce la rezultate neconcludente. Este de preferat (dar nu esențial) să spălați toate probele de sânge cu PBS sau soluție salină izotonă înainte de testare.

PRECAUȚII

- Reactivii sunt destinați exclusiv diagnosticului *in vitro*.
- Dacă un flacon cu reactiv este crăpat sau curge, aruncați conținutul imediat.
- Nu folosiți reactivii după data de expirare (consultați **Eticheta flaconului**).
- Nu folosiți reactivii dacă observați că s-a format un precipitat.
- Purtați echipament de protecție când manipulați reactivii, cum ar fi mănuși de unică folosință și un halat de laborator.
- Reactivii au fost filtrați printr-o membrană de 0,2 μm pentru a reduce încărcătura biologică, dar nu este livrat steril. După deschiderea flaconului, conținutul ar trebui să rămână viabil până la data de expirare.
- Întrucât plasma din care este fabricat acest reactiv nu mai este delipidată, este normal ca reactivul să aibă un aspect tulbure.
- Reactivii conțin <0,1% de azidă de sodiu. Azida de sodiu poate fi toxică dacă este ingerată și poate reacționa cu conductele din plumb sau cupru formând azide metalice explozive. La eliminare, spălați cu cantități mari de apă.
- Materialele utilizate pentru producerea reactivilor au fost testate la sursă și au indicat un rezultat negativ pentru anticorpii HIV 1+2 și HCV, și HBsAg în cadrul unor teste microbiologice aprobate.
- Nu se cunosc teste care să garanteze faptul că produsele derivate din surse umane sau animale nu prezintă agenți infecțioși. Fiți atenți când utilizați și când eliminați un flacon și conținutul acestuia.

ELIMINAREA REACTIVULUI ȘI CUM SE ACȚIONEAZĂ ÎN CAZ DE STROPIRE

Pentru informații privind eliminarea reactivilor și metodele de decontaminare în caz de stropire, consultați **Fișele cu date de securitate**, disponibile la cerere.

MARTORI ȘI RECOMANDĂRI

- Se recomandă testarea în paralel a unui martor pozitiv (ideal, celule heterozigote) și a unui martor negativ cu fiecare lot de teste. Testele trebuie considerate nevalide dacă probele martor nu prezintă rezultatele prevăzute.
- Tehnicile antiglobulinice pot fi considerate valide numai dacă toate testele negative reacționează pozitiv cu globulele roșii sensibilizate cu IgG.
- Reactivii conțin potențiatori macromoleculari care pot provoca reacții fals pozitive cu celulele sensibilizate cu IgG; se recomandă testarea celulelor pacientului cu plasma pacientului pentru testare în scopul detectării reacțiilor fals pozitive.
- Majoritatea enzimelor proteolitice distrug reactivitatea Fy^b.
- Înainte de utilizare, lăsați reactivul să ajungă la temperatura camerei. Immediat după utilizare, depozitați reactivul înapoi la o temperatură cuprinsă între 2 și 8 °C.
- În **Tehnica cu eprubetă**, un volum reprezintă aproximativ 50 μl cu pipeta flaconului furnizată.
- Utilizarea reactivilor și interpretarea rezultatelor trebuie efectuate de personal calificat și instruit în mod corespunzător în conformitate cu cerințele țării în care se utilizează reactivii.
- Utilizatorul trebuie să stabilească în ce măsură se pot utiliza reactivii în alte tehnici.

REACTIVI ȘI MATERIALE CARE SUNT NECESARE, DAR NU SUNT FURNIZATE

Tehnica cu eprubetă

- Antiglobulină umană, adică Lorne AHG Elite (Cat # 435010 sau 415010) sau anti-IgG umană, adică Anti-Human IgG Lorne (Cat # 402010 sau 401010).
- Spălător de celule Coombs.
- Eprubete de sticlă (10 x 75 mm sau 12 x 75 mm).
- Soluție PBS (pH 6,8–7,2) sau soluție salină izotonă (pH 6,5–7,5).
- Globule roșii sensibilizate cu IgG, adică celule de control Coombs Lorne (Cat # 970010).
- Globule roșii martor pozitiv (ideal heterozigote) și negativ.
- Baie de apă sau incubator cu căldură uscată echilibrată la 37 °C ± 2 °C.

Tehnica de tipizare ID Bio-Rad Micro Typing

- Cartele ID Bio-Rad (LISS/Coombs sau Coombs Anti-IgG).
- Centrifugă ID Bio-Rad.
- ID-CellStab sau ID-Diluent 2 Bio-Rad.
- Incubator ID Bio-Rad echilibrat la 37 °C ± 2 °C.

Tehnica de tipizare Ortho BioVue

- Casete sistem Ortho BioVue (Polispecifică AHG sau AHG Anti-IgG).
- Centrifugă sistem Ortho BioVue.
- Bloc termic sistem Ortho BioVue echilibrat la 37 °C ± 2 °C.
- Diluant globule roșii 0,8% Ortho.

Toate tehnicile

- Pipete volumetrice.

TEHNICI RECOMANDATE

A. Tehnica indirectă cu antiglobulină (IAT)

- Pregătiți o suspensie de 2-3% din globulele roșii în PBS sau soluție salină izotonă.
- Puneți într-o eprubetă etichetată: 1 volum de reactiv Lorne și 1 volum de suspensie de globule roșii.
- Amestecați bine și incubați la 37 °C timp de 15 minute.
- Spălați globulele roșii de cel puțin 3 ori cu PBS sau soluție salină izotonă, având grijă să decantați soluția salină între spălări și să resuspendați fiecare buton de globule roșii după fiecare spălare. Decantați complet soluția salină după ultima spălare.
- Adăugați 2 volume de AHG Elite sau anti-IgG umană la fiecare buton de celule uscate.
- Amestecați temeinic și centrifugați toate eprubetele timp de 20 de secunde la 1000 rcf sau la un alt raport adecvat între timp și forță.
- Resuspendați ușor butonul de hematii și efectuați citirea macroscopică pentru aglutinare.
- Confirmați validitatea tuturor reacțiilor negative cu globulele roșii sensibilizate cu IgG.

B. Tehnica ID Bio-Rad (cartelă LISS/Coombs)

- 1. Pregătiți o suspensie de 0,8% din globulele roșii în ID-Cellstab sau ID-Diluent 2.
- 2. Îndepărtați folia de aluminiu de pe cât mai multe microeprubete de la cartelele ID LISS/Coombs sau Coombs Anti-IgG, după cum este necesar.
- 3. Puneți în microeprubeta corespunzătoare: 50 µl de suspensie din globule roșii de 0,8% și 25 µl de reactiv Lorne.
- 4. Incubați cartela(ele) timp de 15 minute la 37 °C.
- 5. Centrifugați cartela(ele) ID într-o centrifugă pentru ID Bio-Rad.
- 6. Efectuați citirea macroscopică pentru aglutinare.

C. Tehnica Ortho BioVue (Casetă AHG)

- 1. Pregătiți o suspensie de 0,8% din globulele roșii în diluant de globule roșii Ortho 0,8%.
- 2. Îndepărtați folia de aluminiu de pe cât mai multe camere de reacție de la casetele polispecifice AHG sau AHG Anti-IgG, după cum este necesar.
- 3. Puneți în camera de reacție corespunzătoare: 50 µl de suspensie de globule roșii și 40 µl de reactiv Lorne.
- 4. Incubați caseta(ele) timp de 15 minute la 37 °C.
- 5. Centrifugați caseta(ele) într-o centrifugă de sistem Ortho BioVue.
- 6. Efectuați citirea macroscopică pentru aglutinare.

INTERPRETAREA REZULTATELOR TESTULUI

- 1. **Pozitiv:** Aglutinarea globulelor roșii constituie un rezultat pozitiv și, în limitele acceptate ale procedurii de testare, indică prezența antigenului Duffy corespunzător pe globulele roșii.
- 2. **Negativ:** Neaglutinarea globulelor roșii constituie un rezultat negativ și, în limitele acceptate ale procedurii de testare, indică absența antigenului Duffy corespunzător pe globulele roșii.

STABILITATEA REACȚIILOR

- 1. Etapele de spălare trebuie finalizate fără întrerupere, iar probele trebuie centrifugate și citite imediat după adăugarea reactivului. Orice întârziere poate duce la disocierea complexelor antigen-anticorp, generând rezultate fals negative sau slab pozitive.
- 2. Aveți grijă la interpretarea rezultatelor testelor efectuate la alte temperaturi decât cele **recomandate**.

LIMITĂRI

- 1. Globulele roșii care au un test antiglobulinic direct (DAT) pozitiv din cauza acoperirii cu IgG nu pot fi tipizate prin **Tehnica indirectă cu antiglobulină**.
- 2. Acest reactiv conține potențiatori macromoleculari care pot provoca reacții fals pozitive cu celulele sensibilizate cu IgG. Se recomandă așadar testarea celulelor pacientului cu plasma pacientului pentru testare în scopul detectării reacțiilor fals pozitive.
- 3. Anticorpii direcționați la antigene de frecvență joasă pot apărea sub forma unor contaminanți nesuspecți în antiseruri pentru grupaj sanguin. În plus, anumite antigene (de ex., Bg, Sd^b) pot fi prezente în stare exaltată pe globulele roșii. Aceste fenomene pot fi sursa unor reacții fals pozitive rare, care pot apărea la mai mult de un lot cu o specificitate dată.
- 4. Nu este posibil să susținem absența completă a anticorpilor contaminanți, deoarece globulele roșii purtătoare de antigene de frecvență joasă sau antigene exaltate nu sunt întotdeauna disponibile pentru testare.
- 5. În schimb, expresia suprimată sau slăbită a anumitor antigene de grup sanguin poate să genereze rezultate fals negative și, prin urmare, trebuie să fiți întotdeauna atenți când atribuiți genotipuri pe baza rezultatelor testului.
- 6. Se poate observa o aglutinare fals pozitivă la testarea celulelor sensibilizate cu IgG.
- 7. Rezultatele fals pozitive pot apărea din cauza potențiatorilor macromoleculari prezenți în reactiv
- 8. Rezultatele fals pozitive sau fals negative pot fi generate și de:
 - Contaminarea materialelor folosite în testare
 - Depozitarea, concentrația celulară, timpul sau temperatura de incubație necorespunzătoare
 - Centrifugarea necorespunzătoare sau excesivă
 - Abaterea de la tehnicile recomandate

CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ SPECIFICE

- 1. Înainte de a fi pus pe piață, fiecare lot de reactiv a fost testat conform metodelor de testare recomandate și enumerate în aceste instrucțiuni de utilizare. Testele corespund cerințelor de testare prezentate în numărul/versiunea curentă a „Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom” (Orientări pentru Serviciile de transfuzii sanguine din Regatul Unit).
- 2. Prezența anticorpilor contaminanți la antigene cu o incidență de 1% sau mai mare în rândul unui eșantion aleatoriu din populație a fost exclusă fie în testele care utilizează globule roșii cu antigen negativ, fie în testele care utilizează reactivii absorbiți anterior pentru a elimina specificitățile de interferență.
- 3. Este posibil ca anticorpii la Xg^a, Do^a, Yt^a, Co^b, Wr^a, Bg^a și V^w să nu fie excluși în testarea specificității de rutină, iar detectarea va depinde de disponibilitatea celei de testare adecvate. Același lucru se poate spune și despre Yt^b, M^b și V^w și alte antigene de frecvență joasă care s-ar putea să nu fie excluse din testarea specificității de rutină, iar detectarea va depinde de disponibilitatea celulelor de testare adecvate
- 4. Controlul calității reactivilor a fost efectuat cu globule roșii cu fenotipuri care au fost verificate de un centru pentru transfuzii sanguine din Regatul Unit și care au fost spălate cu PBS sau soluție salină izotonă înainte de utilizare.

DECLINAREA RESPONSABILITĂȚII

- 1. Utilizatorul este singurul responsabil pentru performanța reactivilor în cazul utilizării altor metode decât cele menționate în **Tehnici recomandate**.
- 2. Orice abatere de la **Tehnicile recomandate** trebuie validată înainte de utilizare⁵.

BIBLIOGRAFIE

- 1. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; pagina 183.
- 2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; capitolul 6.
- 3. AABB Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
- 4. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6th Edition 2002. The Stationary Office.
- 5. 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.

DIMENSIUNI REACTIV DISPONIBILE

	Mărime flacon	Număr de catalog	Teste per flacon
Anti-Fy ^b policlonal	2 ml	317002	40
	1000 ml	317000*	20.000

*Această mărime este valabilă numai pentru utilizare de fabricație suplimentară (FFMU) și, prin urmare, nu are marcajul CE.



Lorne Laboratories Limited
Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate
Danehill
Lower Earley
Berkshire, RG6 4UT
Regatul Unit
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