



CERTIFICATE OF REGISTRATION

Lorne Laboratories Ltd

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

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

ISO 13485:2016

EN ISO 13485:2016

The manufacture of in vitro diagnostic blood grouping reagents. The purchase for resale of in vitro diagnostic serology test kit.

Authorized by



Michael J. Windler, P.E.

Manager of Global Regulatory Service
Distinguished Member of the Technical Staff
Life and Health Sciences, UL LLC



Check Certificate
Status: [here](#)

File Number	A12241	Cycle Start	May 23, 2020
Certificate Number	1458.200523	Effective Date	May 23, 2020
Initial Issue Date	June 26, 2018	Expiry Date	May 22, 2023

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



UL LLC
333 Pfingsten Road
Northbrook, IL 60062-2096 USA



CERTIFICATE

EC No 1434-IVDD-134/2019
Full Quality Assurance System

Directive 98/79/EC on in vitro diagnostic medical devices

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

Lorne Laboratories Ltd

**Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate, Danehill,
Lower Earley, Berkshire RG6 4UT, United Kingdom**

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

Products list in attachments: 1

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

Validity of Certificate: from 10.04.2019 to 23.05.2023

The date of issue of the Certificate: 10.04.2019

The date of the first issue of the Certificate: 10.04.2019



Application No: 649/2019
Module: H7


mgr Anna Wyroba
Vice-President



Certificate No **1434-IVDD-134/2019**
Issued under the Contract No **MD-59/2019**
Bears the PCBC hologram.
Warsaw, 10.04.2019



ANNEX 1 TO CERTIFICATE
VALID ONLY WITH CERTIFICATE
No 1434-IVDD-134/2019

The products detailed below are covered under the scope of this certificate:

Name:

GMDN code:

Anti-A Monoclonal, 600010	52532
Anti-B Monoclonal, 610010	52538
Anti-A,B Monoclonal, 620010	46442
Anti-D Clone 1 Monoclonal, 730010	52647
Anti-D Clone 2 Monoclonal, 710010	52647
Anti-D Duoclonal Monoclonal, 740010	52647
Anti-C Monoclonal, 690005	52546
Anti-E Monoclonal, 691005	52562
Anti-c Monoclonal, 692005	52547
Anti-e Monoclonal, 693005	52563
Anti-C+D+E Monoclonal, 700010	52550
Anti-K Monoclonal, 760010	52593




mgr Anna Wyroba
Vice-President



Annex 1 to certificate No. **1434-IVDD-134/2019**
Issued under the Contract No. **MD-59/2019**
Bears the PCBC hologram.
Warsaw, 10.04.2019



CERTIFICATE

EC Certificate No. 1434-IVDD-027/2022

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

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

Lorne Laboratories Ltd

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

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

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

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

Validity of the Certificate: from 23.03.2022 to 27.05.2025

The date of issue of the Certificate: 03.03.2022

The date of the first issue of the Certificate: 10.04.2019



Issued under the Contract No. MD-173/2021
Application No: 577/2022
Certificate bears the qualified signature.
Warsaw, 03/03/2022
Module H7

Aleksandra Kostrzewa Digitally signed
by Aleksandra
Kostrzewa

President



ANNEX 1 TO THE CERTIFICATE

VALID ONLY WITH CERTIFICATE

No 1434-IVDD-027/2022

List of medical devices covered by the certificate:

Anti-Jka Polyclonal 323002

Anti-Jkb Polyclonal 324002

Anti-Fyb Polyclonal 317002

AHG Elite Clear 415010

AHG Elite Green 435010

Anti-Fya Monoclonal 774002

Anti-Human IgG Clear 401010

Anti-Human IgG Green 402010

Anti-Jka Monoclonal 775002

Anti-Jkb Monoclonal 776002



Issued under the Contract No. MD-173/2021
Application No: 577/2021
Certificate bears the qualified signature.
Warsaw, 03/03/2022

Aleksandra Kostrzewa Digitally signed
by Aleksandra Kostrzewa

President



CERTIFICATE

EC No 1434-IVDD-133/2019
EC Design-Examination

Directive 98/79/EC on in vitro diagnostic medical devices

Polish Centre for Testing and Certification certifies
that manufactured by:

Lorne Laboratories Ltd

**Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate, Danehill, Lower
Earley, Berkshire RG6 4UT, United Kingdom**

in vitro diagnostic medical devices
List A

Products list in attachments: 1

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

Validity of Certificate: from 10.04.2019 to 23.05.2023

The date of issue of the Certificate: 10.04.2019

The date of the first issue of the Certificate: 10.04.2019



Application No: 649/2019
Module: H6


mgr Anna Wyroba
Vice-President



Certificate No **1434-IVDD-133/2019**
Issued under the Contract No **MD-59/2019**
Bears the PCBC hologram.
Warsaw, 10.04.2019



ANNEX 1 TO CERTIFICATE
VALID ONLY WITH CERTIFICATE
No 1434-IVDD-133/2019

The products detailed below are covered under the scope of this certificate:

Name:	GMDN code:
Anti-A Monoclonal, 600010	52532
Anti-B Monoclonal, 610010	52538
Anti-A,B Monoclonal, 620010	46442
Anti-D Clone 1 Monoclonal, 730010	52647
Anti-D Clone 2 Monoclonal, 710010	52647
Anti-D Duoclone Monoclonal, 740010	52647
Anti-C Monoclonal, 690005	52546
Anti-E Monoclonal, 691005	52562
Anti-c Monoclonal, 692005	52547
Anti-e Monoclonal, 693005	52563
Anti-C+D+E Monoclonal, 700010	52550
Anti-K Monoclonal, 760010	52593




mgr Anna Wyroba
Vice-President



Annex 1 to certificate No. **1434-IVDD-133/2019**
Issued under the Contract No. **MD-59/2019**
Bears the PCBC hologram.
Warsaw, 10.04.2019

EC DECLARATION OF CONFORMITY

Lorne Laboratories Ltd declares that the following in vitro diagnostic reagent:

Product Name	Catalogue Number
Anti-k (Cellano) Monoclonal	325002

has been classified as non List A, non List B (Directive 98/79/EC, Annex II) and complies with the essential requirements and provisions of Directive 98/79/EC of the European Parliament and of the Council (also SI 2002 No.618 which transposes the requirements of Directive 98/79/EC).

and is in conformity with the national standards transposing harmonised standards:

- BS EN ISO 13485:2016
- BS EN 13612:2002
- BS EN 13641:2002
- BS EN ISO 14971:2012
- BS EN ISO 15223-1:2016
- BS EN ISO 18113-2:2011
- BS EN ISO 23640:2015

The conformity assessment procedure performed was in accordance with Annex III of Directive 98/79/EC.

This declaration of conformity is issued under the sole responsibility of Lorne Laboratories Ltd and is valid from 04 June 2018.



Eddy Velthuis
Technical Director

EC DECLARATION OF CONFORMITY

Lorne Laboratories Ltd declares that the following in vitro diagnostic reagent:

Product Name	Catalogue Number
Anti-S Monoclonal	770002

has been classified as non List A, non List B (Directive 98/79/EC, Annex II) and complies with the essential requirements and provisions of Directive 98/79/EC of the European Parliament and of the Council (also SI 2002 No.618 which transposes the requirements of Directive 98/79/EC).

and is in conformity with the national standards transposing harmonised standards:

- BS EN ISO 13485:2012
- BS EN 13612:2002
- BS EN 13641:2002
- BS EN ISO 14971:2012
- BS EN ISO 15223-1:2016
- BS EN ISO 18113-2:2011
- BS EN ISO 23640:2015

The conformity assessment procedure performed was in accordance with Annex III of Directive 98/79/EC.

This declaration of conformity is issued under the sole responsibility of Lorne Laboratories Ltd and is valid from 06 April 2017.



Eddy Velthuis
Technical Director

EC DECLARATION OF CONFORMITY

Lorne Laboratories Ltd declares that the following in vitro diagnostic reagent:

Product Name	Catalogue Number
Anti-s Monoclonal	771002

has been classified as non List A, non List B (Directive 98/79/EC, Annex II) and complies with the essential requirements and provisions of Directive 98/79/EC of the European Parliament and of the Council (also SI 2002 No.618 which transposes the requirements of Directive 98/79/EC).

and is in conformity with the national standards transposing harmonised standards:

- BS EN ISO 13485:2012
- BS EN 13612:2002
- BS EN 13641:2002
- BS EN ISO 14971:2012
- BS EN ISO 15223-1:2016
- BS EN ISO 18113-2:2011
- BS EN ISO 23640:2015

The conformity assessment procedure performed was in accordance with Annex III of Directive 98/79/EC.

This declaration of conformity is issued under the sole responsibility of Lorne Laboratories Ltd and is valid from 06 April 2017.



Eddy Velthuis
Technical Director

DIRECTIONS FOR USE

Anti-A, Anti-B and Anti-A,B Monoclonal:

For Tube, Bio-Rad-ID, Ortho BioVue, Microplate and Slide Techniques.

SUMMARY

In 1900, Landsteiner discovered the serum of some people would agglutinate the red cells of others. Four common phenotypes are now recognised: O, A, B and AB. Subgroups of A and B have since been identified.

Forward Group			Reverse Group			ABO Phenotype		Caucasians % ¹
A	B	A,B	A ₁	A ₂	B	O		
+	0	+	0	0	+	0	A	43
0	+	+	+	+	0	0	B	9
0	0	0	+	+	+	0	O	44
+	+	+	0	0	0	0	AB	4

INTENDED PURPOSE

The ABO reagents are blood grouping reagents intended to be used to qualitatively determine the presence or absence of the A and/or B 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 against the appropriate A and/or B antigen on human red cells and will cause direct agglutination (clumping) of red cells that carry the corresponding ABO antigen. No agglutination generally indicates the absence of the corresponding ABO antigen on human red cells (see **Limitations**).

REAGENT

Lorne Monoclonal IgM ABO blood grouping reagents contain mouse monoclonal antibodies diluted in a phosphate buffer containing sodium chloride, EDTA 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	Colour	Dye Used
Anti-A	9113D10	Blue	Patent Blue
Anti-B	9621A8	Yellow	Tartrazine
Anti-A,B	152D12 + 9113D10 + ES15	Colourless	None

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

- 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 reagent 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.
- 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

- It is recommended a positive control 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.

- Since these reagents do not contain macromolecular potentiators, it is very unlikely that false positive reactions are caused with IgG coated cells.
- Blood specimens of weak A or B subgroups (e.g Ax) may give rise to false negative or weak reactions when tested using slides, microtitre plates or gel cards. It is advisable to re-test weak subgroups using tube technique.
- Individuals older than six months should have their ABO blood-grouping results confirmed by testing their serum or plasma against known group A, and B cells before their ABO blood group can be confirmed.
- 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.
- 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

- Applicator sticks.
- Automatic plate reader.
- Bio-Rad ID-Cards (NaCl, enzyme test and cold agglutinins).
- Bio-Rad ID-Centrifuge.
- Bio-Rad ID-CellStab or ID-Diluent 2.
- Glass microscope slides or white card tiles.
- Glass test tubes (10 x 75 mm or 12 x 75 mm).
- Microplate centrifuge.
- Ortho BioVue System Cassettes (Neutral).
- Ortho BioVue System Centrifuge.
- Ortho 0.8% Red Cell Diluent.
- Plate shaker.
- PBS solution (pH 6.8-7.2) or Isotonic saline solution (pH 6.5-7.5).
- Positive and negative control red cells:
 - Anti-A: group A (positive control) and group O (negative control).
 - Anti-B: group B (positive control) and group O (negative control).
 - Anti-A,B: group A and group B (positive controls) and group O (negative control).
- Test tube centrifuge.
- Validated "U" well microplates.
- Volumetric pipettes.

RECOMMENDED TECHNIQUES

A. Tube Technique

- Prepare a 2-3% suspension of red cells in PBS or Isotonic saline.
- Place in a labelled test tube: 1 volume of Lorne Anti-ABO reagent and 1 volume of red cell suspension.
- Mix thoroughly and incubate at room temperature for 1 minute.
- Centrifuge all tubes for 10 seconds at 1000 rcf or for a suitable alternative time and force.
- Gently resuspend red cell button and read macroscopically for agglutination
- Any tubes, which show a negative or questionable result, should be incubated for 15 minutes at room temperature.
- Following incubation, repeat steps 4 and 5.

B. Bio-Rad-ID Technique (NaCl, enzyme test and cold agglutinins cards)

- Prepare a 0.8% suspension of red cells in ID-CellStab or ID-Diluent 2.
- Remove aluminium foil from as many microtubes as needed.
- Place in appropriate microtube: 50µl of red cell suspension and 25µl of Lorne Anti-ABO reagent.
- Centrifuge ID-Card(s) in the Bio-Rad gel card centrifuge.
- Read macroscopically for agglutination.

C. Ortho BioVue Technique (Neutral cassettes)

- 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.
- Place in appropriate reaction chamber: 50µl of red cell suspension and 40µl of Lorne Anti-ABO reagent.
- Centrifuge cassette(s) 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-ABO 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

7. Read macroscopically or with a validated automatic reader.
8. Any weak reactions should be repeated by the tube technique.

E. Slide Technique

1. Prepare a 35-45% suspension of red cells in serum, plasma or PBS or isotonic saline or use anti-coagulated whole blood (in its own plasma).
2. Place on a labelled glass slide or card tile: 1 volume of Lorne Anti-ABO reagent and 1 volume of red cell suspension.
3. Using a clean applicator stick, mix reagent and cells over an area of about 20 x 40 mm.
4. Slowly tilt the slide back and forth for 30 seconds, with occasional further mixing during the 1-minute period, maintaining slide at room temperature.
5. Read macroscopically after 1 minute over a diffuse light and do not mistake fibrin strands as agglutination.
6. Any weak reactions should be repeated by the tube technique.

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 ABO 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 ABO antigen on the red cells.
3. Discrepancies: If the results obtained with reverse group don't correlate with forward group, further investigation is required.

STABILITY OF THE REACTIONS

1. Read all tube and microplate tests immediately after centrifugation.
2. Slide tests should be interpreted after a maximum of 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.
3. Caution should be exercised in the interpretation of results of tests performed at temperatures other than those recommended.

LIMITATIONS

1. ABO antigens are not fully developed at birth and so weaker reactions may therefore occur with cord or neonatal specimens.
2. When using Monoclonal Anti-A,B, blood specimens of weak A or B subgroups (e.g Ax) may give rise to false negative or weak reactions when tested using slides, microtitre plates or gel cards. It is advisable to re-test weak subgroups using the tube technique.
3. Lorne monoclonal Anti-A and monoclonal Anti-B are not validated to detect Ax and A3 or Bx and B3 antigens resp and we therefore do not claim reactivity of the monoclonal Anti-A or Anti-B reagent against these weak A and B sub-groups.
4. Stored blood may give weaker reactions than fresh blood.
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
 - Cord samples contaminated with Wharton's jelly

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

1. Prior to release, each lot of Lorne ABO monoclonal 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'.
2. Specificity of source monoclonal antibodies is demonstrated using a panel of antigen-negative cells.
3. The potency of the reagents has been tested against the following minimum potency reference standards obtained from National Institute of Biological Standards and Controls (NIBSC): Anti-A reference standard 03/188 And / Or Anti-B reference standard 03/164
4. Lorne Anti-B does not react with "Acquired-B" red cells.
5. Lorne Monoclonal ABO reagents do not detect crypt antigens such as T, Tn or Cad.
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 use⁹.

BIBLIOGRAPHY

1. Marion E. Reid and Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens and 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 Stationery 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-A Monoclonal	10 ml	600010	200
	1000 ml	600000*	20,000
	5000 ml	600000X5*	100,000
Anti-B Monoclonal	10 ml	610010	200
	1000 ml	610000*	20,000
	5000 ml	610000X5*	100,000
Anti-A,B Monoclonal	10 ml	620010	200
	1000 ml	620000*	20,000
	5000 ml	620000X5*	100,000

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



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



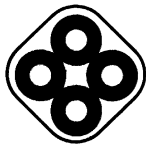
LORNE
LABORATORIES



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



REACTIVI MONOCLONALI PENTRU DETERMINAREA GRUPEI SANGUINE

INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

Anti-A, Anti-B și Anti-A,B monoclonal: Pentru tehnicile cu eprubetă, ID Bio-Rad, Ortho BioVue, cu microplăci și cu lamă.

REZUMAT

În 1900, Landsteiner a descoperit că serul unor persoane poate aglutina globulele roșii ale altora. În prezent sunt recunoscute patru fenotipuri obișnuite: O, A, B și AB. De atunci au fost identificate și subgrupele A și B.

Grup metodă directă			Grup metodă inversă				ABO Fenotip	Caucazieni % ¹
A	B	A,B	A ₁	A ₂	B	O		
+	0	+	0	0	+	0	A	43
0	+	+	+	+	0	0	B	9
0	0	0	+	+	+	0	O	44
+	+	+	0	0	0	0	AB	4

SCOPUL PROPS

Reactivii ABO sunt reactivi pentru determinarea grupei sanguine destinați a fi folosiți pentru a determina calitativ prezența sau absența antigenelor A și/sau B 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

Reactivii conțin anticorpi împotriva antigenului A și/sau B corespunzător de pe globulele roșii umane și vor provoca o aglutinare (aglomerare) directă a globulelor roșii purtătoare ale antigenului ABO corespunzător. Neaglutinarea indică în general absența antigenului ABO corespunzător pe globulele roșii umane (consultați **Limitări**).

REACTIVI

Reactivii monoclonali Lorne IgM pentru determinarea grupei sanguine ABO conțin anticorpi monoclonali de șoarece diluați într-un tampon fosfat care conține clorură de sodiu, EDTA 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**.

Produs	Linie celulară/Cionă	Culoare	Colorant utilizat
Anti-A	9113D10	Albastru	Albastru patent
Anti-B	9621A8	Galben	Tartrazină
Anti-A,B	152D12 + 9113D10 + ES15	Incolor	Niciunul

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 reactivilor. 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 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% 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.
- 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 reactivului și metodele de decontaminare a unui loc în caz de stropire, consultați **Fișele cu date de securitate ale materialului**, disponibile la cerere.

1. MARTORI ȘI RECOMANDĂRI

- Se recomandă testarea în paralel a unui martor pozitiv și a unui martor negativ cu fiecare lot de teste. Testele trebuie considerate nevalide dacă probele martor nu prezintă rezultatele prevăzute.
- Întrucât acești reactivi nu conțin potențiatori macromoleculari, este foarte puțin probabil să fie cauzate reacții fals pozitive la globulele acoperite cu IgG.
- Specimenele de sânge din subgrupele slabe A sau B (de ex., Ax) pot genera reacții fals negative sau slabe în cazul testării cu lame, plăci de microtitru sau cartele cu gel. Se recomandă retestarea subgrupelor slabe cu ajutorul tehnicii cu eprubetă.
- În cazul pacienților cu vârsta mai mare de șase luni, rezultatele determinării grupei ABO trebuie confirmate prin testarea serului sau plasmei acestora în raport cu globulele din grupa A₁ și B cunoscută înainte de a confirma în cazul lor grupa sanguină ABO.
- 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 **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

- Pipete volumetrice.
- Cartele ID Bio-Rad (NaCl, test enzimatic și aglutinine la rece).
- Centrifugă ID Bio-Rad.
- ID-CellStab sau ID-Diluent 2 Bio-Rad.
- Casete sistem Ortho BioVue (neutre).
- Centrifugă sistem Ortho BioVue.
- Diluant globule roșii 0,8% Ortho.
- Lame de sticlă pentru microscopie sau plăci de cartelă albe.
- Bețișoare aplicatoare.
- Eprubete de sticlă (10 x 75 mm sau 12 x 75 mm).
- Centrifugă pentru eprubete.
- Microplăci cu godeuri în formă de U validate.
- Centrifugă pentru microplăci.
- Agitator pentru plăci.
- Soluție PBS (pH 6,8–7,2) sau soluție salină izotonă (pH 6,5–7,5).
- Globule roșii martor pozitiv și negativ:
Anti-A: grupa A (martor pozitiv) și grupa O (martor negativ).
Anti-B: grupa B (martor pozitiv) și grupa O (martor negativ).
Anti-A,B: grupa A și grupa B (martori pozitivi) și grupa O (martor negativ).

TEHNICI RECOMANDATE

A. Tehnica cu eprubetă

- Pregătiți o suspensie de 2-3% din globulele roșii în PBS sau soluție salină izotonă.
- Puneți într-o eprubetă etichetată: 1 volum de reactiv Anti-ABO Lorne și 1 volum de suspensie de globule roșii.
- Amestecați bine și incubați la temperatura camerei timp de 1 minut.
- Centrifugați toate eprubetele timp de 10 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.
- Eprubetele care prezintă un rezultat negativ sau discutabil trebuie incubate timp de 15 minute la temperatura camerei.
- După incubare, repetați pașii 4 și 5.

B. Tehnica ID Bio-Rad (cartele NaCl, test enzimatic și aglutinine la rece)

1. Pregătiți o suspensie de 0,8% din globulele roșii în ID-CellStab sau ID-Diluent 2.
2. Îndepărtați folia de aluminiu de pe mai multe microeprubete, după cum este necesar.
3. Puneți în microeprubeta corespunzătoare: 50 µl de suspensie de globule roșii și 25 µl de reactiv Anti-ABO Lorne.
4. Centrifugați cartela(ele) ID în centrifuga pentru cartele cu gel Bio-Rad.
5. Efectuați citirea macroscopică pentru aglutinare.

C. Tehnica Ortho BioVue (Casete neutre)

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 mai multe camere de reacție, după cum este necesar.
3. Puneți în camera de reacție corespunzătoare: 50 µl de suspensie de globule roșii și 40 µl de reactiv Anti-ABO Lorne.
4. Centrifugați caseta(ele) într-o centrifugă de sistem Ortho BioVue.
5. Efectuați citirea macroscopică pentru aglutinare.

D. Tehnica cu microplăci, care utilizează godeuri în formă de U

1. Pregătiți o suspensie de 2-3% din globulele roșii în PBS sau soluție salină izotonă.
2. Puneți într-un godeu corespunzător: 1 volum de reactiv Anti-ABO Lorne și 1 volum de suspensie de globule roșii.
3. Amestecați temeinic, de preferință cu un agitator pentru microplăci, având grijă să evitați contaminarea încrucișată între godeuri.
4. Incubați la temperatura camerei timp de 15 minute (timpul depinde de utilizator).
5. Centrifugați microplaca timp de 1 minut la 140 rcf sau la un alt raport adecvat între timp și forță.
6. Resuspendați butonul celular cu o agitație atent controlată într-un agitator de microplăci.
7. Efectuați citirea macroscopică sau cu un cititor automat validat.
8. Orice reacție slabă trebuie reconfirmată prin tehnica cu eprubetă.

E. Tehnica cu lamă

1. Pregătiți o suspensie de 35-45% din globulele roșii în ser, plasmă, PBS sau soluție salină izotonă sau utilizați sânge integral anti-coagulat (în plasmă proprie).
2. Puneți pe o lamă de sticlă sau o placă de cartelă etichetată: 1 volum de reactiv Anti-ABO Lorne și 1 volum de suspensie de globule roșii.
3. Folosind un bețișor aplicator curat, amestecați reactivul și celulele pe o suprafață de circa 20 x 40 mm.
4. Înclinați încet lama înainte și înapoi timp de 30 de secunde, amestecând ocazional și mai mult în intervalul de 1 minut, păstrând lama la temperatura camerei.
5. Efectuați citirea macroscopică după 1 minut la lumină difuză și nu confundați firele de fibrină cu aglutinarea.
6. Orice reacție slabă trebuie reconfirmată prin tehnica cu eprubetă.

INTERPRETAREA REZULTATELOR TESTULUI

1. **Pozitiv:** Aglutinarea globulelor roșii constituie un rezultat pozitiv și, în limitele acceptate ale procedurii de testare, indică prezența antigenului ABO corespunzător pe globulele roșii.
2. **Negativ:** Neaglutinarea globulelor roșii constituie un rezultat negativ și, în limitele acceptate ale procedurii de testare, indică absența antigenului ABO corespunzător pe globulele roșii.
3. **Discrepanțe:** Dacă rezultatele obținute cu grupul cu metoda inversă nu corespund cu grupul cu metoda directă, sunt necesare investigații suplimentare.

STABILITATEA REACȚIILOR

1. Efectuați citirea testelor cu eprubetă și microplacă imediat după centrifugare.
2. Testele cu lamă ar trebui interpretate după maximum un minut pentru a garanta specificitatea și a evita riscul de a interpreta incorect un rezultat negativ ca fiind pozitiv din cauza uscării reactivului.
3. Aveți grijă la interpretarea rezultatelor testelor efectuate la alte temperaturi decât cele recomandate.

LIMITĂRI

1. Întrucât antigenele ABO nu sunt pe deplin dezvoltate la naștere, pot apărea reacții mai slabe la speciemenle de la nivelul cordonului ombilical și neonatale.
2. Atunci când se utilizează Anti-A,B monoclonal, speciemenle de sânge din subgrupele slabe A sau B (de ex., Ax) pot genera reacții fals negative sau slabe în cazul testării cu lame, plăci de microtitru sau cartele cu gel. Se recomandă retestarea subgrupelor slabe cu ajutorul tehnicii cu eprubetă.
3. Întrucât Anti-A monoclonal și Anti-B monoclonal Lorne nu sunt validați pentru a depista antigene Ax și A3, respectiv Bx și B3, nu susținem reactivitatea reactivului monoclonal Anti-A sau Anti-B împotriva acestor subgrupe A și B slabe.
4. Sângele stocat poate genera reacții mai slabe decât sângele proaspăt.
5. 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
- Probele de la nivelul cordonului ombilical contaminate cu gelatina Wharton

CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ SPECIFICE

1. Înainte de a fi pus pe piață, fiecare lot de reactiv monoclonal ABO Lorne 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”³ (Orientări pentru Serviciile de transfuzii sanguine din Regatul Unit) și „Common Technical Specifications” (Specificații tehnice comune).
2. Specificitatea anticorpilor monoclonali este demonstrată cu ajutorul unui panou de celule cu antigen negativ.
3. Forța reactivilor a fost testată în raport cu standardele de referință privind forța minimă obținute de la Institutul Național de Standarde Biologice și Control (NIBSC):
 - Standard de referință Anti-A 03/188 și / sau
 - Standard de referință Anti-B 03/164
4. Anti-B Lorne nu reacționează cu globulele roșii „B dobândit”.
5. Reactivii monoclonali ABO Lorne nu detectează criptoantigene, cum ar fi T, Tn sau Cad.
6. 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 181.
2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; capitolul 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.

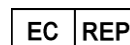
DIMENSIUNI REACTIV DISPONIBILE

	Mărime flacon	Număr de catalog	Teste per flacon
Anti-A monoclonal	10 ml	600010	200
	1000 ml	600000*	20.000
	5000 ml	600000X5*	100.000
Anti-B monoclonal	10 ml	610010	200
	1000 ml	610000*	20.000
	5000 ml	610000X5*	100.000
Anti-A,B monoclonal	10 ml	620010	200
	1000 ml	620000*	20.000
	5000 ml	620000X5*	100.000

*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



LORNE LABORATORIES LTD.
GREAT BRITAIN



REAGENȚII DE GROUP MONOCLONAL.

INSTRUCȚIUNILE DE UTILIZARE

Anti-D Clone 1 și Clone 2 Monoclonal: pentru tub, DiaMed-ID, Ortho BioVue, tehnici de microplaci și diapozitive.

REZUMAT

Sistemul Rh de grup sanguin a fost descoperit în 1940. Antigenul D este cel mai mult clinic semnificativ non-ABO de celule roșii de sânge și a fost implicat în provocând reacții hemolitice de transfuzie și boală hemolitică a nou-născutului.

Anti -D	Fenotip	Caucasieni %	Afro -Americani %
+	Rh D +ve	85	72
0	Rh D -ve	15	28

PRINCIPIU

Reactivii vor cauza aglutinarea directă (clumping) a celulelor roșii test care poartă antigenul D. Nici o aglutinare nu indică în general absența antigenului D (vezi Limitări).

REACTIV

Lorne monoclonal IgM Anti-D Clone 1 și Clone 2 reactivi de grupare sanguină sunt reactivi cu proteine scăzute care conțin un anticorp IgM monoclonal uman diluat cu clorură de sodiu (0,9 g%), albumină bovină (3 g%) și potențiatori macromoleculați. La introducerea eșantioanelor pacientului, fiecare reactiv va aglutina direct celulele Rh pozitive, inclusiv majoritatea variantelor (dar nu și DVI) și o proporție mare de fenotipuri D (Du) slabe atunci când se utilizează tehnicile recomandate. Fiecare reactiv este furnizat la o diluție optimă pentru utilizarea pe eșantioanele pacientului cu toate tehnicile recomandate menționate mai jos, fără a mai fi necesară o continuare diluare sau adăugare. Pentru numărul de referință al lotului și data de expirare, consultați Eticheta flaconului.

Produs	Linie celulară / clonă
Anti -D Clone 1	RUM-1
Anti -D Clone 2	MS-201

EXPUNEREA FAȚĂ A ANTIGENULUI RhD

Termenul colectiv Du este utilizat pe scară largă pentru a descrie celulele roșii care au o exprimare mai slabă a antigenului D decât în mod normal. Termenul D slab indică indivizii cu un număr redus de situsuri antigenice complete D pe celula roșie. Termenul parțial D denotă indivizi cu epitop de antigen D lipsă. Celulele D_{VI} sunt o categorie D parțială, care nu are cele mai multe epitopi D. Ambii reactivi ai clonei 1 și clonei 2 vor detecta cele mai multe exemple de celule roșii parțiale și slabe D prin aglutinare directă, dar nu vor detecta celule D_{VI}.

DEPOZITARE

Flacoanele cu reactiv trebuie păstrate la 2 - 8°C la primire. Depozitare prelungită la temperaturile din afara acestui interval pot duce la pierderea accelerată a reactivului reactivitate. Acest reactiv a fost supus unor studii de stabilitate la transport la 37 ° C și -25 ° C conform descrierii din documentul EN13640: 2002.

COLECTAREA ȘI PREGĂTIREA DE PROBE

Probele de sânge trase cu sau fără anticoagulant pot fi utilizate pentru antigen tastare. Dacă testarea este întârziată, depozitați speciamele la 2-8 ° C. EDTA și citrat eșantioanele ar trebui să fie tipărite în termen de 7 zile de la colectare. Probele colectate în ACD, CPD sau CPDA-1 pot fi testate până la 35 de zile de la data de retragere. Toate probele de sânge trebuie spălate cel puțin de două ori cu PBS sau soluție salină izotonică înainte de a fi testate. Probele care prezintă dovezi de liză pot da rezultate nesigure.

PRECAUȚII

1. Reactivii sunt destinați numai pentru diagnosticul in vitro.
2. Dacă un flacon de reactiv este crăpat sau scurs, aruncați imediat conținutul.
3. Nu utilizați reactivii după data expirării (vezi Eticheta flaconului).
4. Nu utilizați reactivii dacă există un precipitat.
5. La manipularea reactivilor, cum ar fi mănuși de unică folosință și un strat de laborator.
6. Reactivii au fost fitierii printr-o capsulă de 0,2 pm pentru a reduce povara biologică. Odată ce un flacon a fost deschis, conținutul trebuie să rămână viabil până la data de expirare, atât timp cât nu există turbiditate marcată, ceea ce poate indica deteriorarea sau contaminarea reactivilor.
7. Reactivii conțin <0,1% azidă de sodiu. Azida de sodiu poate fi toxică dacă este ingerată și poate reacționa cu plumbul din plumb și cupru pentru a forma azide metalice explozive. Înlăturați-le cu cantități mari de apă.
8. Materialele utilizate pentru producerea produselor au fost testate la sursă și s-au dovedit a fi negative pentru anticorpii HIV 1 + 2 și HCV și HBsAg utilizând teste microbiologice aprobate.
9. Niciun test cunoscut nu poate garanta că produsele derivate din surse umane sau animale nu conțin agenți infecțioși. Trebuie să se acorde atenție utilizării și eliminării fiecărui flacon și a conținutului acestuia

ELIMINAREA REACTIVULUI ȘI DEZVOLTAREA SPĂLĂRILOR

Pentru informații despre eliminarea reactivului și despre decontaminarea unui loc de scurgere, consultați Fișe tehnice de securitate pentru materiale, disponibile la cerere.

CONTROALE ȘI RECOMANDĂRI

1. Se recomandă un control pozitiv (în mod ideal celulele R1r), un control negativ (celule rr ideale) și un control negativ al reactivilor (cum ar fi Lorne Negative Control, catalogul # 650010) să fie testate în paralel cu fiecare lot de teste. Testele trebuie considerate nevalabile dacă controalele nu prezintă rezultatele așteptate.
2. Când tastați eritrocitele de la un pacient este important ca un reactiv să fie negativ controlul este inclus, deoarece potențiatorii macromoleculați ai reactivului pot produce reacții false pozitive cu celule acoperite cu IgG, de ex. în cazurile de AIHA sau HDN. Se recomandă controlul negativ Lorne pentru reactivii monoclonali anti-D (Cat # 650010).
3. Variantele de antigen slabe și parțiale D sunt slab detectate de cardul de gel, microtitrare și tehnica de diapozitive. Se recomandă să fie slab și parțial D sunt testate folosind tehnica de testare a tuburilor.
4. În Tehnicile Recomandate, un volum este de aproximativ 50μl când se utilizează picuratorul de flacon furnizat.
5. Utilizarea reactivilor și interpretarea rezultatelor trebuie să fie efectuate de personal bine instruit și calificat, în conformitate cu cerințele țării în care reactivii sunt utilizați.
6. Utilizatorul trebuie să determine compatibilitatea reactivilor pentru utilizarea în alte tehnici.

REACTIVI ȘI MATERIALE NECESARE

- Aplicatori.
- Cititor automat de placă.
- Carduri de identitate DiaMed (Neutru).
- DiaMed ID-Centrifuge.
- DiaMed ID-CellStab.
- Diapozitive cu microscop din sticlă.
- Tuburi de testare din sticlă (10 x 75 mm sau 12 x 75 mm).
- Centrifugă cu microplăci.
- Casete Ortho BioVue System (Neutru).
- Ortho BioVue System Centrifuge.
- Ortho 0,8% Diluant pentru celule roșii.
- Agitator de placă.
- soluție PBS (pH 6,8-7,2) sau soluție salină izotonică (pH 6,5-7,5).
- celule roșii pozitive (în mod ideal R1r) și negative (rr).
- Centrifuga cu tub de testare.
- microplăci cu valori "U" validate.
- Pipete volumetrice.

TEHNICI RECOMANDATE

A. Tehnica tubului

1. Se prepară o suspensie de 2-3% de celule roșii de test spălate în PBS sau soluție salină izotonică.
2. Așezați într-un tub de etichetare etichetat: 1 volum de reactiv Lorne Anti-D și 1 volum de suspensie de test pentru eritrocite.
3. Se amestecă bine și se centrifughează toate tuburile timp de 20 de secunde la 1000 rcf sau pentru un timp și forță alternative adecvate.

4. Resuspendați ușor butonul de celule roșii și citiți macroscopic pentru aglutinare
5. Orice tuburi care prezintă un rezultat negativ sau dubios (cum se poate întâmpla în cazul probelor slabe D) trebuie incubate timp de 15 minute la temperatura camerei.
6. După incubare, repetați pașii 3 și 4.

B. Tehnica de tipare micro-diaMed-ID

1. Se prepară o suspensie de 0,8% de celule roșii de testare spălate în ID-CellStab.
2. Îndepărtați folia de aluminiu din cât mai multe microtuburi, după cum este necesar.
3. Amplasați în microtubul corespunzător: 50μl suspensie de test de celule roșii și 25μl de Lorne Anti-D.
4. Centrifugați cardul (ID-urile) de identitate într-o centrifugă cu card de gel Diamed.
5. Citiți macroscopic pentru aglutinare.

C. Tehnica de tipare Ortho BioVue (carduri neutre)

1. Se prepară o suspensie de 0,8% de celule roșii testate spălate în diluant Ortho de celule roșii de 0,9%.
2. Îndepărtați folia de aluminiu din cât mai multe camere de reacție, după cum este necesar.
3. Amplasați în camera de reacție adecvată: 50 pl de suspensie de celule roșii test și 40 pl de reactiv Lorne Anti-D.
4. Centrifuge caseta (c) într-o Centrifugă Ortho BioVue System.
5. Citiți macroscopic pentru aglutinare.

D. Tehnica microplăcilor, folosind sondele "U"

1. Se prepară o suspensie de 2-3% de celule roșii testate spălate în PBS sau soluție salină izotonică.
2. Așezați în godeul corespunzător: 1 volum de reactiv Lorne Anti-D și 1 suspensie de test pentru celule roșii.
3. Se amestecă bine, de preferință folosind un agitator de microplăci, având grijă să se evite contaminare transversală.
4. Incubează la temperatura camerei timp de 15 minute (timpul depinde de utilizator).
5. Centrifuge microplaciul timp de 1 minut la 140 rcf sau pentru un timp și forță alternative adecvate.
6. Resuspendați butoanele celulare utilizând agitație controlată atent pe a microplaci
7. Citiți macroscopic sau cu un cititor automat validat.
8. Orice reacție slabă trebuie repetată prin tehnica tubului.

E. Tehnica diapozitivelor

1. Se prepară o suspensie de eritrocite de 35-45% în ser, plasmă sau PBS sau soluție salină izotonică.
2. Așezați pe o placă de sticlă etichetă: 1 volum de reactiv Lorne Anti-D și 1 volumul suspensiei de test pentru eritrocite.
3. Folosind un stick de aplicator curat, amestecați reactivul și celulele pe o suprafață de aproximativ 20 x 40 mm.
4. Înclinați ușor glisorul înainte și înapoi timp de 30 de secunde, ocazional în continuare amestecarea în timpul perioadei de 2 minute, menținând glisarea la temperatura camerei.
5. Citiți macroscopic după 2 minute pe o lumină difuză și nu greșea firelor de fir ca aglutinare.
6. Orice reacție slabă trebuie repetată prin tehnica tubului.

INTERPRETAREA REZULTATELOR TESTELOR

1. Pozitive: Aglutinarea celulelor roșii de testare reprezintă un rezultat pozitiv al testului și, în cadrul limitărilor acceptate ale procedurii de testare, indică prezența antigenului D pe celulele roșii de test.
2. Negativ: nici o aglutinare a celulelor roșii test nu reprezintă un rezultat negativ și în limitele acceptate ale procedurii de testare, indică absența antigenului D pe celulele roșii test.
3. Se vor exclude rezultatele testelor de celule care sunt aglutinate folosind controlul negativ al reactivului, deoarece aglutinarea este cel mai probabil cauzată de efectul potențatorilor macromoleculari în reactiv asupra celulelor sensibilizate.

STABILITATEA REACȚIILOR

1. Citiți toate testele cu tuburi și microplăci imediat după centrifugare.
2. Testele diapozitive trebuie interpretate în două minute pentru a se asigura specificitatea și pentru a evita posibilitatea ca un rezultat negativ să poată fi interpretat incorect ca pozitiv datorită uscării reactivului.
3. Trebuie interpretat cu prudență interpretarea rezultatelor testelor efectuate la temperaturi diferite de cele recomandate.

LIMITAREA

1. Lorne Anti-D nu este adecvată pentru utilizarea cu celule enzimaticate tratate, celule suspendate în LISS sau utilizate în tehnicile antiglobulinice indirecte (IAT).
2. Sângele stocat poate produce reacții mai slabe decât sângele proaspăt.
3. Se poate observa o aglutinare falsă pozitivă din cauza prezenței potențiatori macromoleculare în reactiv atunci când se testează IgG sensibilizată celule, de ex. AIHA, HDN.
4. De asemenea, pot apărea rezultate fals pozitive sau false, datorită:

- Contaminarea materialelor de testare
- Depozitarea necorespunzătoare, concentrația celulară, timpul de incubare sau temperatura
- Centrifugare necorespunzătoare sau excesivă
- Abaterea de la tehnicile recomandate

CARACTERISTICI SPECIFICE DE PERFORMANȚĂ

1. Reactivii au fost caracterizați prin toate procedurile menționate în Tehnicile recomandate.
2. Înainte de eliberare, fiecare lot de Lorne Monoclonal Anti-D Clone1 și Anti-D Clona 2 este testată prin tehnicile recomandate împotriva unui grup de celule roșii antigen-pozitive pentru a asigura o reactivitate adecvată.
3. Reactivii de grupare anti-D pentru gruparea D a pacienților nu trebuie să reacționeze cu celulele DVI utilizând metoda (metodele) recomandată (e) pentru utilizare.
4. Specificitatea anticorpilor monoclonali sursă este demonstrată utilizând un grup de celule antigen-negative.
5. Eficacitatea reactivilor a fost testată pe baza următorului standard de referință pentru potența minimă obținut de la Institutul Național de Standarde și Controale Biologice (NIBSC):
 - Referința anti-D 99/836.
6. Controlul calității reactivilor a fost efectuat utilizând celule roșii care au avut a fost spălat de două ori cu PBS sau cu soluție salină izotonică înainte de utilizare.
7. Reactivii respectă recomandările cuprinse în ultimul număr al Ghidului pentru serviciile britanice de transfuzie a sângelui.

DECLINAREA RESPONSABILITĂȚII

1. Utilizatorul este responsabil pentru performanța reactivilor prin orice altă metodă decât cea menționată în Tehnicile recomandate.
2. Orice abatere de la tehnicile recomandate trebuie validată înainte de utilizare⁹.

DIMENSIUNI DISPONIBILE REACTIVI

	<i>Dimensiune flacon</i>	<i>Numar Catalog</i>
Anti-D Clone 1 Monoclonal	10ml	730010
	1000ml	730000*
Anti- D Clone 2 Monoclonal	10ml	710010
	1000ml	710000*

* --- Această dimensiune este numai pentru utilizarea în fabricație ulterioară (FFMU) și, prin urmare, nu este Marcajul CE.

TABEL SIMBOLURI

	Batch Number		<i>In-vitro</i> Diagnostic
	Catalogue Reference		Store At
	Expiry Date		Manufacturer
	Read Pack Insert		

Pentru disponibilitatea altor dimensiuni, Va rugam sa contactati:

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

DIRECTIONS FOR USE

Anti-D Clone 1 and Clone 2 Monoclonal:

For Tube, Bio-Rad-ID, Ortho BioVue, Microplate and Slide Techniques.

SUMMARY

The Rh blood group system was discovered in 1940. The D antigen is the most clinically significant non-ABO red blood cell antigen and has been implicated in causing Haemolytic Transfusion Reactions and Haemolytic Disease of the Newborn.

Anti-D	Phenotype	Caucasians % ¹	Afro-Americans % ²
+	Rh D +ve	83	92
0	Rh D -ve	17	8

INTENDED PURPOSE

The Anti-D reagents are blood grouping reagents intended to be used to qualitatively determine the presence or absence of the Rh D 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 D antigen on human red cells and will cause direct agglutination (clumping) of human red cells that carry the D antigen. No agglutination (no clumping) generally indicates the absence of the D antigen on human red cells (see **Limitations**).

REAGENT

Lorne Monoclonal IgM Anti-D Clone 1 and Clone 2 blood grouping reagents are low protein reagents containing a human monoclonal IgM antibody diluted with sodium chloride (0.9 g%), bovine albumin (2.0 g%) and macromolecular potentiators (1.5 g%). When typing patient samples, each reagent will directly agglutinate Rh D positive cells, including majority of variants (but not D^u) and a high proportion of weak D (D^u) phenotypes when using the recommended techniques. 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 on patient samples with all recommended techniques stated below without need for further dilution or addition. For lot reference number and expiry date see Vial Label.

Product	Cell Line / Clone
Anti-D Clone 1	RUM-1
Anti-D Clone 2	MS-201

WEAKENED EXPRESSION OF THE RhD ANTIGEN

The collective term D^u is widely used to describe red cells which have a weaker expression of the D antigen than normal. The term weak D denotes individuals with a reduced number of complete D antigen sites per red cell. The term partial D denotes individuals with missing D antigen epitopes. D^u cells is a partial D category which misses most D epitopes. Both Clone 1 and Clone 2 reagents will detect most examples of partial and weak D red cells by direct agglutination, but will not detect D^u cells.

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

- 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 expiry 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 reagent and decontamination of a spillage site see Material Safety Data Sheets, available on request.

CONTROLS AND ADVICE

- It is recommended a positive control (ideally R,r cells), and a negative control (ideally rr cells) be tested in parallel with each batch of tests. Tests must be considered invalid if controls do not show expected results.
- 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 Monoclonal D Negative Control (catalogue # 650010). Tests must be considered invalid if red cells are agglutinated using Lorne's Monoclonal D Negative Control (catalogue # 650010).
- Weak and partial D antigen variants are poorly detected by the gel card, microtitre plate and slide technique. It is recommended that weak and partial D variants are tested using the tube test technique.
- 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 50 µl 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 suitability of the reagents for use in other techniques.

REAGENTS AND MATERIALS REQUIRED

- Applicator sticks.
- Automatic plate reader.
- Bio-Rad ID-Cards (NaCl, enzyme test and cold agglutinins).
- Bio-Rad ID-Centrifuge.
- Bio-Rad ID-CellStab or ID-Diluent 2.
- Glass microscope slides or white card tiles.
- Glass test tubes (10 x 75 mm or 12 x 75 mm).
- Microplate centrifuge.
- Ortho BioVue System Cassettes (Neutral).
- Ortho BioVue System Centrifuge.
- Ortho 0.8% Red Cell Diluent.
- Plate shaker.
- PBS solution (pH 6.8-7.2) or isotonic saline solution (pH 6.5-7.5).
- Positive (ideally R,r) and negative (rr) control red cells.
- Test tube centrifuge.
- Validated "U" well microplates.
- Volumetric pipettes.

RECOMMENDED TECHNIQUES

A. Tube Technique

- Prepare a 2-3% suspension of red cells in PBS or isotonic saline.
- Place in a labelled test tube: 1 volume of Lorne Anti-D reagent and 1 volume of red cell suspension.
- 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.
- Any tubes, which show negative or questionable result (as can happen with weak D samples), should be incubated for 15 minutes at room temperature.
- Following incubation, repeat steps 3 and 4.

B. Bio-Rad-ID Technique (NaCl, enzyme test and cold agglutinins cards)

- Prepare a 0.8% suspension of red cells in ID-CellStab or ID-Diluent 2.
- Remove aluminium foil from as many microtubes as needed.
- Place in appropriate microtube: 50 µl of red cell suspension and 25 µl of Lorne Anti-D reagent.
- Centrifuge ID-Card(s) in a Bio-Rad gel card centrifuge.
- Read macroscopically for agglutination.

C. Ortho BioVue Technique (Neutral cards)

- 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.
- Place in appropriate reaction chamber: 50 µl of red cell suspension and 40 µl of Lorne Anti-D reagent.
- Centrifuge cassette(s) 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-D 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 or use anti-coagulated whole blood (in its own plasma).
- Place on a labelled glass slide or card tile: 1 volume of Lorne Anti-D 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 30 seconds, with occasional further mixing during the 1-minute period, 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 D 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 D 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 immediately after centrifugation.
- Slide tests should be interpreted after a maximum of 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-D is not suitable for use with enzyme treated cells, cells suspended in LISS or for use in indirect antiglobulin (IAT) techniques.
- Stored blood may give weaker reactions than fresh blood.
- False positive agglutination may be seen due to the presence of macromolecular potentiators in the reagent when testing IgG sensitised cells, e.g. ALHA, HDN.
- 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 Lorne Anti-D monoclonal 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'.
- Anti-D grouping reagents for D grouping of patients should not react with D^u cells using the method(s) recommended for use.
- Specificity of source monoclonal antibodies is demonstrated using a panel of antigen-negative cells.
- The potency of the reagents has been tested against the following minimum potency reference standard obtained from National Institute of Biological Standards and Controls (NIBSC):
 - Anti-D reference 99/836.
- 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 use⁹.

BIBLIOGRAPHY

- Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition, Montgomery Scientific, Miami, 1985, Chapter 10.
- AABB Technical Manual, 16th Edition, AABB 2008.

- Marion E. Reid and Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens and Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 192.
- 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 Stationery 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	Test per vial
Anti-D Clone 1 Monoclonal	10 ml	730010	200
	1000 ml	730000*	20,000
	5000 ml	730000X5*	100,000
Anti-D Clone 2 Monoclonal	10 ml	710010	200
	1000 ml	710000*	20,000
	5000 ml	710000X5*	100,000

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

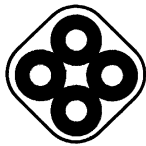


Advena Ltd, Tower Business Centre, 2nd Floor, Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta



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



REACTIVI MONOCLONALI PENTRU DETERMINAREA GRUPEI SANGUINE INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

Anti-D Duoclone Monoclonal: Pentru tehnicile cu eprubetă, ID Rad, Ortho BioVue, cu microplăci și cu lamă.

REZUMAT

Sistemul grupelor sanguine Rh a fost descoperit în 1940. Antigenul D este, din punct de vedere clinic, cel mai semnificativ antigen eritocitar non-ABO și este implicat în producerea reacțiilor hemolitice la transfuzii și a bolii hemolitice a nou-născutului.

Anti-D	Fenotip	Caucazieni % ³	Afro-americani % ³
+	Rh D +ve	83	92
0	Rh D -ve	17	8

SCOPUL PROPUȘ

Reactivii Anti-D sunt reactivi pentru determinarea grupei sanguine destinați a fi folosiți pentru a determina calitativ prezența sau absența antigenului Rh D 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 împotriva antigenului D de pe globulele roșii umane și va provoca aglutinarea (aglomerarea) directă a globulelor roșii umane purtătoare ale antigenului D și aglutinarea indirectă a globulelor roșii umane din categoria D^{VI} în faza testului antiglobulinic. Neaglutinarea (neaglomerarea) indică în general absența antigenului D de pe globulele roșii umane (consultați **Limitări**).

REACTIV

Reactivul Monoclonal Anti-D Duoclone Lorne este un reactiv amestecat, cu conținut scăzut de proteine, care conține Anti-D monoclonal uman IgM și IgG, diluat într-un tampon fosfat care conține clorură de sodiu (0,9 g%), albumină bovină (2,0 g%) și potențiatori macromoleculari (1,5 g%). La tipizarea probelor de la pacient, acest reactiv va aglutina direct globulele roșii Rh D pozitiv, inclusiv majoritatea variantelor (**dar nu D^{VI}**), precum și o mare parte a fenotipurilor D (D^u) slabe, dacă este folosit conform tehnicilor recomandate. 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. Reactivul este furnizat la diluarea optimă pentru utilizare pe probele de la pacienți 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**.

IgM / IgG	Linie celulară / Clonă
IgM	RUM-1
IgG	MS-26

EXPRESIA SLĂBITĂ A ANTIGENULUI RhD

Termenul colectiv D^u este utilizat pe scară largă pentru a descrie globulele roșii cu o expresie a antigenului D mai slabă decât cea normală. Expresia „D slab” se referă la persoanele cu un număr redus de situsuri antigenice D complete per globulă roșie. Expresia „D parțial” se referă la persoanele cu epitopi D lipsă. D^{VI} este o categorie a D parțial în care lipsesc majoritatea epitopilor D. Reactivul Duoclone va detecta majoritatea exemplurilor de globule roșii D parțiale și slabe prin aglutinare directă, dar nu va detecta celulele D^{VI}. Acest reactiv va detecta celulele D^{VI} și D parțial în faza IAT.

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

- Reactivul este destinat exclusiv diagnosticului *in vitro*.
- Dacă un flacon cu reactiv este crăpat sau curge, aruncați conținutul imediat.
- Nu folosiți reactivul după data de expirare (consultați **Eticheta flaconului**).
- Nu folosiți reactivul 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.

- Reactivul a fost filtrat 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.
- Reactivul conține <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 reactivului 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 reactivului 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 din grupa R1r) și a unui martor negativ (ideal, celule rr) cu fiecare lot de teste. Testele trebuie considerate nevalide dacă probele martor nu prezintă rezultatele prevăzute.
- La tipizarea unor globule roșii de la un pacient diagnosticat cu o boală care provoacă acoperirea globulelor roșii cu anticorpi sau cu alte proteine (cum ar fi, HDN, AIHA), este important să testați globulele roșii ale pacientului folosind martorul negativ de reactiv Lorne (Monoclonal D Negative Control (nr. de catalog 650010)). Testele trebuie considerate nevalide dacă globulele roșii sunt aglutinate folosind Monoclonal D Negative Control de la Lorne (nr. de catalog 650010).
- Testați probele pentru determinarea categoriei D^{VI} numai cu **tehnicile de test antiglobulinic indirect, Coombs Bio-Rad, ID Bio-Rad și Coombs Ortho BioVue**.
- Antigenele slabe și variantele de D sunt detectate foarte greu prin tehnicile cu cartelă cu gel, placă de microtitru și lamă. Se recomandă testarea variantelor slabe și parțiale folosind tehnici de testare cu eprubetă.
- Tehnica de testare în eprubetă a antiglobulinei poate fi considerată validă 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 reactivului 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, de ex., Lorne AHG Elite (Cat # 435010) sau Anti-IgG umană, de ex., Anti-Human IgG Lorne (Cat # 402010).
- Pipete volumetrice.
- Lame de sticlă pentru microscopie sau plăci de cartelă albe.
- Bețigoare aplicatoare.
- Eprubete de sticlă (10 x 75 mm sau 12 x 75 mm).
- Baie de apă sau incubator cu căldură uscată echilibrată la 37 °C ± 2 °C.
- Centrifugă pentru eprubete.
- Spălător de celule Coombs.
- Microplăci cu godeuri în formă de U validate.
- Centrifugă pentru microplăci.
- Agitator pentru plăci.
- Cititor automat pentru plăci.
- Cartele ID Bio-Rad (LISS/Coombs) și NaCl (test enzimatic și aglutinine la rece).
- Centrifugă ID Bio-Rad.
- ID-CellStab sau ID-Diluent 2 Bio-Rad.
- Incubator ID Bio-Rad echilibrat la 37 °C ± 2 °C.
- Casete sistem Ortho BioVue (AHG/Coombs) și neutre.
- Centrifugă sistem Ortho BioVue.
- Bloc termic sistem Ortho BioVue echilibrat la 37 °C ± 2 °C.
- Diluant globule roșii 0,8% Ortho.
- Globule roșii sensibilizate cu IgG, de ex. Celule de control Coombs Lorne (Cat # 970010).
- Soluție PBS (pH 6,8–7,2) sau soluție salină izotonă (pH 6,5–7,5).

- Globule roșii martor pozitiv (ideal, R₁r) și negativ (rr).

TEHNICI RECOMANDATE (NU CATEGORIA D^V)

A. Tehnica cu eprubetă

1. Pregătiți o suspensie de 2-3% din globulele roșii în PBS sau soluție salină izotonă.
2. Puneți într-o eprubetă etichetată: 1 volum de reactiv Duoclon Lorne și 1 volum de suspensie de globule roșii.
3. Amestecați temeinic și centrifugați toate eprubetele timp de 20 de secunde la 1000 rcf sau la un alt raport adecvat între timp și forță.
4. Resuspendați ușor butonul de hematii și efectuați citirea macroscopică pentru aglutinare
5. Orice eprubetă, care prezintă un rezultat negativ sau discutabil (care poate apărea la probele D^U sau D slab), trebuie incubată timp de 15 minute la temperatura camerei.
6. După incubare, repetați pașii 3 și 4.

B. Tehnica ID Bio-Rad (cartele NaCl, test enzimatic și aglutinine la rece)

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, după cum este necesar.
3. Puneți în microeprubeta corespunzătoare: 50 µl de suspensie de globule roșii de testare și 25 µl de reactiv Duoclon Lorne.
4. Centrifugați cartela(ele) ID într-o centrifugă pentru cartele cu gel.
5. Efectuați citirea macroscopică pentru aglutinare.

C. Tehnica Ortho BioVue (casete neutre)

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, după cum este necesar.
3. Puneți în camera de reacție corespunzătoare: 50 µl de suspensie de globule roșii de testare și 40 µl de reactiv Duoclon Lorne.
4. Centrifugați caseta(ele) într-o centrifugă de sistem Ortho BioVue.
5. Efectuați citirea macroscopică pentru aglutinare.

D. Tehnica cu microplăci, care utilizează godeuri în formă de U

1. Pregătiți o suspensie de 2-3% din globulele roșii în PBS sau soluție salină izotonă.
2. Puneți într-un godeu corespunzător: 1 volum de reactiv Duoclon Lorne și 1 volum de suspensie de globule roșii.
3. Amestecați temeinic, de preferință cu un agitator pentru microplăci, având grijă să evitați contaminarea încrucișată între godeuri.
4. Incubați la temperatura camerei timp de 15 minute (timpul depinde de utilizator).
5. Centrifugați microplaca timp de 1 minut la 140 rcf sau la un alt raport adecvat între timp și forță.
6. Resuspendați butonul celular cu o agitație atent controlată într-un agitator de microplăci
7. Efectuați citirea macroscopică sau cu un cititor automat validat.
8. Orice reacție slabă trebuie reconfirmată prin tehnica cu eprubetă.

E. Tehnica cu lamă

1. Pregătiți o suspensie de 35-45% din globulele roșii în ser, plasmă, sau PBS sau soluție salină izotonă sau utilizați sânge integral anti-coagulat (în plasmă proprie).
2. Puneți pe o lamă de sticlă sau o placă de cartelă etichetată: 1 volum de reactiv Duoclon Lorne și 1 volum de suspensie de globule roșii de testare.
3. Folosind un bețișor aplicator curat, amestecați reactivul și celulele pe o suprafață de circa 20 x 40 mm.
4. Înclinați încet lama înainte și înapoi timp de 30 de secunde, amestecând ocazional și mai mult în intervalul de 1 minut, păstrând lama la temperatura camerei.
5. Efectuați citirea macroscopică după 1 minut la lumină difuză și nu confundați firele de fibrină cu aglutinarea.
6. Orice reacție slabă trebuie reconfirmată prin tehnica cu eprubetă.

TEHNICI RECOMANDATE (PENTRU A DETECTA CATEGORIA D^V)

A. Tehnica indirectă cu antiglobulină (IAT)

1. Pregătiți o suspensie de 2-3% din globulele roșii în PBS sau soluție salină izotonă.
2. Puneți într-o eprubetă etichetată: 1 volum de Duoclon Lorne și 1 volum de suspensie de globule roșii de testare.
3. Amestecați bine și incubați la 37 °C timp de 15 minute.
4. Spălați globulele roșii cel puțin o dată 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.
5. Adăugați 2 picături de AHG sau anti-IgG la fiecare buton de celule uscate.
6. Amestecați temeinic și centrifugați toate eprubetele timp de 20 de secunde la 1000 rcf sau la un alt raport adecvat între timp și forță.
7. Resuspendați fiecare buton de hematii și efectuați citirea macroscopică.
8. Confirmați validitatea tuturor reacțiilor negative cu globulele roșii sensibilizate cu IgG.

B. Tehnica ID Bio-Rad (cartele 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, după cum este necesar.
3. Puneți în microeprubeta corespunzătoare: 50 µl de suspensie de globule roșii și 25 µl de Duoclon Lorne.
4. Incubați cartela(ele) timp de 15 minute la 37 °C.
5. Centrifugați cartela(ele) ID într-o centrifugă pentru cartele cu gel.
6. Efectuați citirea macroscopică pentru aglutinare.

C. Tehnica Ortho BioVue (casete AHG/Coombs)

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, după cum este necesar.
3. Puneți în camera de reacție corespunzătoare: 50 µl de suspensie de globule roșii de testare și 40 µl de Duoclon 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 D pe globulele roșii.
2. **Negativ:** Neaglutinarea globulelor roșii constituie un rezultat negativ și, în limitele acceptate ale procedurii de testare, indică absența antigenului D pe globulele roșii.
3. **Martor:** Rezultatele testului unor celule care sunt aglutinate folosind martorul negativ al reactivului trebuie excluse, deoarece aglutinarea este cel mai probabil cauzată de efectul potențiatorilor macromoleculari în reactivul de pe celulele sensibilizate.

STABILITATEA REACȚIILOR

1. Efectuați citirea testelor cu eprubetă și microplacă imediat după centrifugare.
2. Finalizați etapele de spălare fără întrerupere și centrifugați și citiți testele imediat după adăugarea antiglobulinei umane deoarece orice întârziere poate duce la disocierea complexelor antigen-anticorp, generând reacții fals negative sau slab pozitive.
3. Testele cu lamă ar trebui interpretate după maximum 1 minut pentru a garanta specificitatea și a evita riscul de a interpreta incorect un rezultat negativ ca fiind pozitiv din cauza uscării reactivului.
4. Aveți grijă la interpretarea rezultatelor testelor efectuate la alte temperaturi decât cele recomandate.

LIMITĂRI

1. Anti-D Lorne nu este conceput pentru a fi utilizat cu celule tratate enzimatic sau cu celule suspendate în LISS.
2. Orice alte soluții pentru producerea de suspensii eritrocitare decât cele descrise în secțiunile „Tehnici recomandate” din document trebuie validate înainte de utilizare. Unele soluții pot genera reacții fals pozitive sau fals negative.
3. Sângele stocat poate genera reacții mai slabe decât sângele proaspăt
4. Se poate observa o aglutinare fals pozitivă la testarea celulelor sensibilizate cu IgG.
5. Rezultatele fals pozitive sau fals negative pot fi generate și de:
 - Contaminarea materialelor folosite în testare
 - Depozitarea, concentrația celulară, timpul sau temperatura de incubajie 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 Anti-D Duoclon Lorne 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) și „Common Technical Specifications” (Specificații tehnice comune).
2. Specificitatea anticorpilor monoclonali la sursă este demonstrată cu ajutorul unui panou de celule cu antigen negativ.
3. Forța reactivului a fost testată în raport cu standardul de referință privind forța minimă obținut de la Institutul Național de Standarde Biologice și Control (NIBSC):
 - Referință Anti-D 99/836.
4. Controlul calității reactivilor a fost efectuat cu globule roșii cu fenotipuri care au fost verificate de un control 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 reactivului în cazul utilizării altor metode decât cele menționate în **Tehnici recomandate**.
2. Orice abatere de la **Tehnicile recomandate** trebuie validată înainte de utilizare⁸.

BIBLIOGRAFIE

1. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition, Montgomery Scientific, Miami, 1985, capitolul 10.
2. AABB Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
3. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; pagina 192.
4. 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 1991; 1995. **5**, 171-184
5. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6th Edition 2002. The Stationary 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.

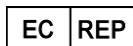
DIMENSIUNI REACTIV DISPONIBILE

Mărime flacon	Număr de catalog	Teste per flacon
10 ml	740010	200
1000 ml	740000*	20.000
5000 ml	740000x5*	100.000

***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

DIRECTIONS FOR USE

Anti-D Duoclon Monoclonal:

For Tube, Bio-Rad-ID, Ortho BioVue, Microplate and Slide Techniques.

SUMMARY

The Rh blood group system was discovered in 1940. The D antigen is the most clinically significant non-ABO red blood cell antigen and has been implicated in causing Haemolytic Transfusion Reactions and Haemolytic Disease of the Newborn.

Anti-D	Phenotype	Caucasians %	Afro-Americans %
+	Rh D +ve	83	92
0	Rh D -ve	17	8

INTENDED PURPOSE

The Anti-D reagents are blood grouping reagents intended to be used to qualitatively determine the presence or absence of the Rh D 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 D antigen on human red cells and will cause direct agglutination (clumping) of human red cells that carry the D antigen and indirect agglutination of human red cells that are Category D^o in the antiglobulin phase of testing. No agglutination (no clumping) generally indicates the absence of the D antigen on human red cells (see **Limitations**).

REAGENT

Lorne Monoclonal Anti-D Duoclon blood grouping reagent is a low protein, blended reagent containing a human monoclonal IgM and IgG anti-D, diluted in a phosphate buffer containing sodium chloride (0.9 g%), bovine albumin (2.0 g%) and macromolecular potentiators (1.5 g%). When typing patient samples, this reagent will directly agglutinate Rh D positive cells, including majority of variants (but not D^o) and a high proportion of weak D (D^o) phenotypes when using the recommended techniques. 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 on patient samples with all recommended techniques stated below without need for further dilution or addition. For lot reference number and expiry date see Vial Label.

IgM / IgG	Cell Line / Clone
IgM	RUM-1
IgG	MS-26

WEAKENED EXPRESSION OF THE RhD ANTIGEN

The collective term D^o is widely used to describe red cells which have a weaker expression of the D antigen than normal. The term weak D denotes individuals with a reduced number of complete D antigen sites per red cell. The term partial D denotes individuals with missing D antigen epitopes. D^o is a partial D category which misses most D epitopes. Duoclon reagent will detect most examples of partial and weak D red cells by direct agglutination, but will not detect D^o cells. This reagent will detect D^o and partial D cells in the IAT phase.

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 anticoagulant 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 reagent is 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 reagent past the expiration date (see Vial Label).
4. Do not use the reagent 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 reagent has 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 reagent contains <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 reagent 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 that a positive control (ideally R1r cells) and a negative control (ideally rr cells) 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 reagent negative control (Monoclonal D Negative Control, catalogue # 650010). Tests must be considered invalid if red cells are agglutinated using Lorne's Monoclonal D Negative Control (catalogue # 650010).
3. Test samples for category D^o determination by the Indirect Antiglobulin Test, Coombs Bio-Rad-ID and Coombs Ortho BioVue techniques only.
4. Weak and variant D antigens are poorly detected by gel card, microtitre plate and slide techniques. It is recommended that weak and partial variants are tested using the tube test technique.
5. The antiglobulin tube technique can only be considered valid if all negative tests react positively with IgG sensitised red cells.
6. 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.
7. In the Recommended Techniques one volume is approximately 50µl when using the vial dropper provided.
8. The use of the reagent 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.
9. The user must determine suitability of reagents for use in other techniques.

REAGENTS AND MATERIALS REQUIRED

- Anti-human globulin e.g. Lorne AHG Elite (Cat # 435010) or Anti-Human IgG e.g. Lorne Anti-Human IgG (Cat # 402010).
- Applicator sticks.
- Automatic plate reader.
- Coombs cell washer.
- Bio-Rad ID-Cards (LISS/Coombs) and (NaCl, enzyme test and cold agglutinins).
- Bio-Rad ID-Centrifuge.
- Bio-Rad ID-CellStab or ID-Diluent 2.
- Bio-Rad ID-Incubator equilibrated to 37°C ± 2°C.
- Glass microscope slides or white card tiles.
- Glass test tubes (10 x 75 mm or 12 x 75 mm).
- IgG sensitised red cells e.g. Lorne Coombs Control Cells (Cat # 970010).
- Microplate centrifuge.
- Ortho BioVue System Cassettes (AHG/Coombs) and (Neutral).
- Ortho BioVue System Centrifuge.
- Ortho BioVue System Heat Block equilibrated to 37°C ± 2°C.
- Ortho 0.8% Red Cell Diluent.
- Plate shaker.
- PBS solution (pH 6.8-7.2) or Isotonic saline solution (pH 6.5-7.5).
- Positive (ideally R,r) and negative (rr) control red cells.
- Test tube centrifuge.
- Validated "U" well microplates.
- Volumetric pipettes.
- Water bath or dry heat incubator equilibrated to 37°C ± 2°C.

RECOMMENDED TECHNIQUES (NOT CATEGORY D^o)**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 of Lorne Duoclon reagent and 1 volume of 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 (which can happen with D^o or weak D samples), should be incubated for 15 minutes at room temperature.
6. Following incubation, repeat steps 3 and 4.

B. Bio-Rad-ID Technique (NaCl, enzyme test 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 as needed.
3. Place in appropriate microtube: 50µl test red cell suspension and 25µl Lorne Duoclon reagent.
4. Centrifuge the ID-Card(s) in a Bio-Rad gel card centrifuge.
5. Read macroscopically for agglutination.

C. Ortho BioVue Technique (Neutral cards)

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 as needed.
3. Place in appropriate reaction chamber: 50µl of red cell suspension and 40µl of Lorne Duoclone reagent.
4. Centrifuge cassette(s) in an Ortho BioVue System Centrifuge.
5. Read macroscopically for agglutination.

D. Microplate Technique, using "U" wells

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

E. Slide Technique

1. Prepare a 35-45% suspension of red cells in serum, plasma or PBS or Isotonic saline or use anti-coagulated whole blood (in it's own plasma).
2. Place on a labelled glass slide or card tile: 1 volume of Lorne Duoclone reagent and 1 volume of red cell suspension.
3. Using a clean applicator stick, mix reagent and cells over an area of about 20 x 40 mm.
4. Slowly tilt the slide back and forth for 30 seconds, with occasional further mixing during the 1 minute period, maintaining slide at room temperature.
5. Read macroscopically after 1 minute over a diffuse light and do not mistake fibrin strands as agglutination.
6. Any weak reactions should be repeated by the tube technique.

RECOMMENDED TECHNIQUES (TO DETECT CATEGORY D^W)

A. Indirect Antiglobulin Technique (IAT)

1. Prepare a 2-3% suspension of red cells in PBS or Isotonic saline.
2. Place in a labelled test tube: 1 volume of Lorne Duoclone and 1 volume of red cell suspension.
3. Mix thoroughly and incubate at 37°C for 15 minutes.
4. Wash red cells at least once 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.
5. Add 2 drops of AHG or anti-IgG to each dry cell button.
6. Mix thoroughly and centrifuge all tubes for 20 seconds at 1000 rcf for a suitable alternative time and force.
7. Resuspend each cell button and read macroscopically.
8. Confirm validity of all negative reactions with IgG sensitised red cells.

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

1. Prepare 0.8% suspension of red cells in ID-CellStab or ID-Diluent 2.
2. Remove aluminium foil from as many microtubes as needed.
3. Place in appropriate microtube: 50µl of red cell suspension and 25µl of Lorne Duoclone.
4. Incubate the ID-Card(s) for 15 minutes at 37°C.
5. Centrifuge the ID-Card(s) in a Bio-Rad gel card centrifuge.
6. Read macroscopically for agglutination.

C. Ortho BioVue Technique (AHG/Coombs cards)

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 as needed.
3. Place in appropriate reaction chamber: 50µl of red cell suspension and 40µl of Lorne Duoclone.
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.

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 D antigen on the test 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 D 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. Read all tube and microplate tests immediately after centrifugation.
2. Complete washing steps without interruption and centrifuge and read tests immediately after addition of anti-human globulin because delays may result in dissociation of antigen-antibody complexes, leading to false negative or

weak positive reactions.

3. Slide tests should be interpreted after a maximum of 1 minute to ensure specificity and to avoid the possibility a negative result may be incorrectly interpreted as positive due to drying of the reagent.
4. Caution should be exercised in the interpretation of results of tests performed at temperatures other than those recommended.

LIMITATIONS

1. Lorne Anti-D is not suitable for use with enzyme treated cells or cells suspended in LISS.
2. The use of solutions for making red cell suspensions other than those described in the "Recommended Techniques" sections in the document must be validated prior to use. Some solutions may give rise to false positive or false negative reactions.
3. Stored blood may give weaker reactions than fresh blood.
4. False positive agglutination may be seen when testing IgG sensitised cells.
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 Lorne Anti-D Duoclone monoclonal 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'.
2. Specificity of source monoclonal antibodies is demonstrated using a panel of antigen-negative cells.
3. The potency of the reagent has been tested against the following minimum potency reference standard obtained from National Institute of Biological Standards and Controls (NIBSC): Anti-D reference 99/836.
4. The Quality Control of the reagent 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 reagent 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. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition, Montgomery Scientific, Miami, 1985, Chapter 10.
2. AABB Technical Manual, 16th Edition, AABB 2008.
3. Marion E. Reid and Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens and Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 192.
4. 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
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	Tests Per Vial
10 ml	740010	200
1000 ml	740000*	20,000
5000 ml	740000X5*	100,000

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



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



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



LORNE LABORATORIES LTD.
GREAT BRITAIN



REACTIVI MONOCLONALI SANGVIVI

#referinta a documentului CEPI760

INSTRUCTII DE UTILIZARE

Anti-K Monoclonal: pentru Tehnici in Tub, DiaMed-ID, Ortho BioVue, Microplaci si Slide-uri

SUMAR

Antigenul K a fost identificat în 1946. Antigenul este complet dezvoltat la naștere și poate fi puternic imunogenic. Anti-K a fost implicat în Reacțiile Hemolitice de Transfuzie și la bolile hemolitice a nou-născuților.

Anti-K	Anti-k	Fenotip	Populatia Caucaziana %	Populatia Afro-Americana %
+	0	K+k-	0.2	Rara
+	+	K+k+	8.8	2.0
0	+	K-k+	91.0	98.0
0	0	K ₀	Foarte rara	

PRINCIPII

Reagentul va cauza aglutinarea celulelor, care poarta antigenul K. Lipsa aglutinarii in general nu indica lipsa antigenului K (a se vedea **Limitarile**).

REAGENTI

Reactivul grupei sanguine Lorne Monoclonal Anti-K este un reactiv scăzut de proteine conținând anticorpii monoclonali IgM, Clone MS-56, diluat într-un tampon fosfat care conține clorură de sodiu (0,9 g%), albumină bovină (6 g%) și potențiatori macromoleculari. Reagentul este furnizat în diluție optimă pentru utilizare cu 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**.

CONDITII DE PASTRARE

Flacoanele cu reagent trebuie să fie păstrate la 2-8°C la primire. Pastrarea 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 este menționat în documentul EN13640:2002.

COLECTAREA SI TRANSPORTAREA PROBELOR

Probele de singe colectate cu sau fără anticoagulant pot fi utilizate pentru tipărirea antigenului. Dacă testarea se face mai târziu, atunci probele se stochează la 2-8°C. Probele cu EDTA și citrate trebuie să fie testate în timp de 7 zile după colectare. Probele colectate ACD, CPD, CPDA-1 pot fi testate timp de până la 35 zile din data colectării. Toate probele de singe trebuie să fie spălate cel puțin de două ori cu PBS sau soluție izotonică salină înainte de testare.

PRECAUTII

1. Reagentul este destinat 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 termen expirat (a se vedea pe **Eticheta flaconului**).
4. Nu utilizați reagentul dacă este prezent precipitatul.
5. Purtați haine de protecție în timpul utilizării reagentului, precum măști și halat.
6. Reagentul a fost filtrat prin filter de 0,2μ, 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 turbiditate în flacon, care poate indica asupra prezentei deteriorării sau contaminării.
7. Reagentul conține <0,1% de azidă 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 negative la anticorpii HIV 1+2, HCV și HBsAg prin metodici microbiologice aprobate.
9. Nici o metodă de testare cunoscută nu poate garanta lipsa agenților infecțioși în produsele derivate din material de origine umană sau biologică. Atenție se ia la utilizare și distrugerea fiecărui flacon și a conținutului acestuia.

PROCEDURI DE DISTRUGERE A REAGENTULUI SI DE PROTECTIE IN CAZUL SCURGERII

Pentru informarea referitor la procedurile de distrugere și de-contaminare a locului de scurgere, a se vedea Brosurile cu Date referitor la Siguranța Materialului (Material Safety Data Sheets).

CONTROALE SI SFATURI

1. Se recomanda utilizarea in paralel a controalelor pozitive (ideal celulele heterozigote) si cele negative la efectuarea testarii fiecarui set de probe. Testele trebuie considerate invalide în cazul în care controalele nu afişează rezultatele aşteptate.
2. La tastarea celule roşii de la un pacient, este important ca un control negativ a reactivului (Mono Rh control, Lorne număr de catalog 640010) sa fie inclus, deoarece potenţiatori macromoleculare în reactiv poate provoca reacţii fals pozitive cu celule IgG acoperite.
3. Antigenul-K slab poate fi greu detectat prin utilizarea tehnicii de card de gel, placă de microtitrare. Se recomandă ca antigene slabe K sa fie testate prin folosirea tehnicii de testare in tub.
4. In **Tehnicile Recomandate** un volum se considera de cca 50µl la utilizarea flaconului cu pipeta oferit.
5. Utilizarea reagentilor si interpretarea rezultatelor trebuie sa fie efectuata de personal antrenat si calificat in corcondanta cu cerintele tarii unde acesti reagent se folosesc.
6. Utilizatorul trebuie sa determine utilitatea reagentului in alte tehnici decit cele mentionate.

REAGENTI SI MATERIALE NECESARE

1. Stick-uri.
2. Cititor de placa automat.
3. Solutia PBS (pH 6.8–7.2) sau Solutia salina Izotonica (pH 6.5–7.5).
4. ID-Carduri DiaMed (Neutre).
5. ID-Centrifuga DiaMed.
6. Dia-Med ID-CellStab.
7. Sliduri din sticla pentru microscop.
8. Tuburi de testare din sticla (10 x 75 mm or 12 x 75 mm).
9. Centrifuga microplaca.
10. Casete BioVue System (Neutre)
11. Centrifuga BioVue System.
12. Diluents pentru cellule rosii Ortho 8%.
13. Shaker.
14. Control de cellule rosii pozitiv (ideal Kk) si negative (kk)
15. Tub de testare centrifuga.
16. Godeuri “U” validate.
17. Pipette volumetrice.

TEHNICI RECOMANDATE

A. TEHNICA IN TUB

1. Preparati o suspensie de cellule rosii spalate 2-3% in PBS sau solutie izotonica salina.
2. Adaugati in tubul marcat pentru testare: 1 volum de reagent Lorne Anti-A₁ si 1 volum de suspensie de cellule rosii de testare.
3. Amestecati minutios si centrifugati toate tuburile timp de 20 secunde la 1000 rcf sau utilizati alti parametric corespunzatori de timp si viteza de centrifugare.
4. Resuspendati atent conglomeratul de cellule rosii si cititi aglutinarea microscopica.
5. Orice tub care prezinta rezultat negativ trebuie incubat la temperatura camerei timp de 15 minute.
6. După incubare, repetați pașii 3 și 4.

B. TEHNICA de MICROTIPARE DiaMed-ID

1. Prepararea suspensiei de 0,8% a celulelor rosii spalate in ID-CellStab.
2. Inlaturati folia de aluminiu de pe tuburi.
3. Plasati in tuburile corespunzatoare: 50µl de solutie suspensie cellule rosii de testare si 25µl de reagent Lorne.
4. Centrifugati ID-Card(s) in Centrifuga Diamed ID.
5. Cititi rezultatul aglutinarii macroscopic.

C. TEHNICA DE TIPARE Ortho Bio Vue

1. Prepararea suspensiei de 0,8% a celulelor rosii spalate in 0,8% Ortho Red Cell Diluent.
2. Inlaturati folia de aluminiu de pe cit mai multe camera de reactive, dupa cum este necesar.
3. Plasati in camera de reactive corespunzatoare: 50µl de solutie suspensie cellule rosii si 40 µl de reagent Lorne.
4. Centrifugati casetele timp de 5 minute in centrifuga Ortho BioVue System.
5. Cititi rezultatul aglutinarii macroscopic.

D. TEHNICA Microplaca, utilizind godeuri “U”

1. Preparati o suspensie de cellule rosii spalate 2-3% in PBS sau solutie izotonica salina.

2. Adaugati in godeurile corespunzatoare: 1 volum de reagent Lorne si 1 volum de suspensie de cellule rosii de testare.
3. Agitati minutios, de preferință folosind un agitator pentru microplăci, având grijă să se evite contaminarea încrucișată.
4. Incubati pentru 15 minute la temperatura camerei (in functie de utilizator).
5. Centrifugati microplaca timp de 1 minut la 140 RCF corespunzator.
6. Resuspendati butoanele de celula utilizind cu atentie agitarea controlata pe un agitator de microplaci.
7. Cititi macroscopic sau la un cititor automat validat.
8. Orice reacții slabe trebuie repetate prin Tehnica in tub.

E. TEHNICA SLIDE

1. Preparati o suspensie de cellule rosii de 35-45% in ser, plasma sau PBS sau solutie izotonica salina.
2. Adaugati in tubul marcat pentru testare: 1 volum de reagent Lorne si 1 volum de suspensie de cellule rosii de testare.
3. Cu ajutorul unui aplicator curat, amestecati reactivul și celulele pe o suprafață de aproximativ 20 x 40 mm.
4. Inclinati încet slide-ul înainte și înapoi timp de 30 de secunde, cu amestecare ocazionala timp de 2 minute, menținând slide-ul la temperatura camerei.
5. Cititi macroscopic dupa 2 minute, la o lumina difuza sis a nu gresiti filamentele de fibrina ca si aglutinarea.
6. Orice reacții slabe trebuie repetate prin Tehnica in tub.

INTERPRETAREA REZULTATELOR TESTULUI

1. Pozitiv: aglutinarea celulelor rosii testate constituie rezultatul pozitiv al testarii in limitele acceptate a procedurii de testare si indica prezenta antigenului K de pe celulele rosii de testare.
2. Negative: lipsa aglutinarii celulelor rosii de testare constituie rezultatul negative si in lilmitile acceptate a procedurii de testare, indicind absenta antigenului K corespunzator de pe celulele rosii de testare.
3. Rezultatele testelor de celule care sunt aglutinate folosind controlul negativ reactiv se exclud, deoarece aglutinarea este cel mai probabil cauzată de efectul potențiatori macromoleculare în reactiv pe celulele sensibilizate.

STABILITATEA REACTIILOR

1. Citirea imediata a rezultatelor dupa centrifugare.
2. Testele Slide trebuie interpretate în două minute pentru a asigura specificitatea și pentru a evita posibilitatea unui rezultat negativ poate fi interpretat în mod eronat ca fiind pozitiv datorită uscării reactivului.
3. Precautia trebuie luata in interpretarea rezultatelor testului realizat la temperaturile altele decit cele recomandate.

LIMITARILE

1. Single stocat poate da reactii mai slabe decit single proaspat.
2. Rezultatele fals positive si fals negative pot aparea datorita:
 - Contaminarea materialului de testare.
 - Pastrarea incorecta, concentratia celulara, timpul de incubare sau temperatura.
 - Centrifugarea incorecta sau excesiva.
 - Abateri de la tehnica recomandata.

CARACTERISTICILE PERFORMANTELOR SPECIFICE

1. Reagentii au fost caracterizati prin procedurile mentionate in Tehnici Recomandate.
2. Inaintea eliberarii, fiecare lot a reagentului Lorne Anti-K este testat prin Tehnicile Recomandate contra panelului de cellule rosii antigen pozitive pentru asigurarea reactivitatii corespunzatoare.
3. Specificitatea sursei a anticorpilor monoclonali este demonstrată cu ajutorul unui panou de celule antigen negative.
4. Controlul Calitatii a reagentilor a fost realizat prin utilizarea celulelor rosii care au fost spalate dublu cu PBS sau solutie salina izotonica inainte de utilizare.
5. Reactivul este în conformitate cu recomandările cuprinse în ultimul număr al Ghidului pentru Marea Britanie a Serviciilor de Transfuzie a Singelui.

DECLARAȚIE

1. Utilizatorul este responsabil pentru performanța reactivilor obtinuta prin oricare alta metodă, decât cele menționate în Tehnicile Recomandate.
2. Orice abatere de la Tehnicile Recomandate ar trebui să fie validate 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. 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.

DIMENSIUNI DISPONIBILE REACTIVI

Dimensiune flacon	Numar Catalog
10ml	760010
1000ml	760000*

* Acest format este doar pentru utilizare in producer si astfel nu este cu marcajul CE.

Pentru disponibilitatea altor dimensiuni, Va rugam sa contactati:

Lorne Laboratories Limited

Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate

Danehill

Lower Earley, Reading,

Berkshire, RG6 4UT

United Kingdom

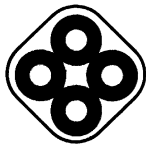
Tel: +44 (0) 118 921 2264

Fax: +44 (0) 118 986 4518

E-mail: info@lornelabs.com

TABEL SIMBOLURI

	Batch Number		<i>In-vitro Diagnostic</i>
	Catalogue Reference		Store At
	Expiry Date		Manufacturer
	Read Pack Insert		



MONOCLONAL BLOOD GROUPING REAGENTS DIRECTIONS FOR USE

Anti-K Monoclonal: For Tube, Bio-Rad-ID, Ortho BioVue, Microplate and Slide Techniques.

SUMMARY

The K antigen was reported in 1946. The antigen is fully developed at birth and can be strongly immunogenic. Anti-K has been implicated in Haemolytic Transfusion Reactions and Haemolytic Disease of the Newborn.

Anti-K	Anti-k	Phenotype	Caucasians ¹	Afro-Americans ¹
+	0	K+k-	0.2%	Rare
+	+	K+k+	8.8%	2%
0	+	K-k+	91%	98%
0	0	K _o	Very Rare	

INTENDED PURPOSE

The reagent is a blood grouping reagent intended to be used to qualitatively determine the presence or absence of the Kell antigen (KEL1) 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 antigen on human red cells and causes direct agglutination (clumping) of human red cells that carry the Kell antigen. No agglutination (no clumping) generally indicates the absence of the Kell antigen (see **Limitations**).

REAGENT

Lorne Monoclonal Anti-K blood grouping reagent is a low protein reagent containing the monoclonal IgM antibody, Clone MS-56, diluted in a phosphate buffer containing sodium chloride, bovine albumin and macromolecular potentiators (4.0 g%). 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 recommended techniques stated below without 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, 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 reagent is intended for *in vitro* diagnostic use only.
- If a reagent vial is cracked or leaking, discard the contents immediately.
- Do not use the reagent past the expiration date (see **Vial Label**).
- Do not use the reagent if a precipitate is present.
- Protective clothing should be worn when handling the reagents, such as disposable gloves and a laboratory coat.
- The reagent has 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 reagent contains < 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 reagent 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 reagent 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) 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.

- When typing red cells from a patient it is important that a reagent negative control (Mono Rh Control, Lorne catalogue number 640010) is included since the macromolecular potentiators in the reagent may cause false positive reactions with IgG coated cells.
- Weak K antigens may be poorly detected by the gel card, microtitre plate and slide technique. It is recommended that weak K antigens are tested using the tube test technique.
- 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.
- 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 suitability of reagent 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 (ideally Kk) and negative (kk) control red cells.

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

- 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 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.
- Any tubes, which show a negative or questionable result, should be incubated for 15 minutes at room temperature.
- Following incubation, repeat steps 3 and 4.

B. Bio-Rad ID Technique (NaCl, Enzyme tests and Cold Agglutinins cards)

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

C. Ortho BioVue Technique (Neutral 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 Neutral cassette(s) as needed.
- Place in appropriate reaction chamber: 50µl of red cell suspension and 40µl of Lorne reagent.
- Centrifuge cassette(s) in an Ortho BioVue System Centrifuge.
- Read macroscopically for agglutination.

D. Microplate Technique, using “U” wells

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

E. Slide Technique

1. 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.
2. Place on a labelled glass slide or card tile: 1 volume of Lorne reagent and 1 volume of red cell suspension.
3. Using a clean applicator stick, mix reagent and cells over an area of about 20 x 40 mm.
4. Slowly tilt the slide back and forth for 1 minute, maintaining slide at room temperature.
5. Read macroscopically after 1 minute over a diffuse light and do not mistake fibrin strands as agglutination.
6. Any weak reactions should be repeated by the tube technique.

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 K 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 K antigen on the 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. Read all tube and microplate tests straight after centrifugation.
2. 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.
3. Caution should be exercised in the interpretation of results of tests performed at temperatures other than those recommended.

LIMITATIONS

1. Stored blood may give weaker reactions than fresh blood
2. 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 this 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.
2. Specificity of source monoclonal antibodies is demonstrated using a panel of antigen-negative cells.
3. The Quality Control of the reagent 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 reagent 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 12.
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

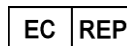
Vial Size	Catalogue Number	Tests per vial
10 ml	760010	200
1000 ml	760000*	20,000

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

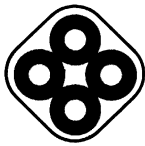


Lorne Laboratories Limited

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-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. Tippet 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.

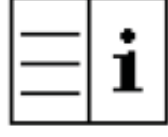
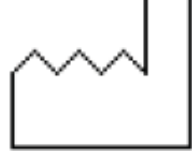
AMBALAJUL OFERIT

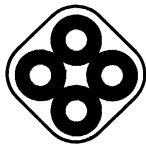
	Volumul flaconului	Număr de catalog
Anti-C Monoclonal	5 ml	690005
	1000 ml	690000*
Anti-E Monoclonal	5 ml	691005
	1000 ml	691000*
Anti-c Monoclonal	5 ml	692005
	1000 ml	692000*
Anti-e Monoclonal	5 ml	693005
	1000 ml	693000*

* 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

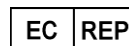
	Vial Size	Catalogue Number	Tests per vial
Anti-C Monoclonal	5 ml	690005	100
	1000 ml	690000*	20,000
Anti-E Monoclonal	5 ml	691005	100
	1000 ml	691000*	20,000
Anti-c Monoclonal	5 ml	692005	100
	1000 ml	692000*	20,000
Anti-e Monoclonal	5 ml	693005	100
	1000 ml	693000*	20,000

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

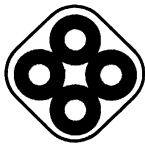


Lorne Laboratories Limited

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



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 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. 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 **Tehnici 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.

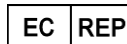
DIMENSIUNI REACTIV DISPONIBILE

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

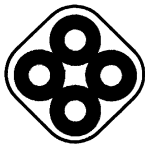
*Această mărime este valabilă numai pentru utilizare de fabricație suplimentară (FFMU) și, prin urmare, nu are marcajul CE.



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

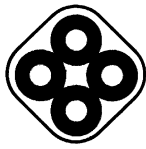
	Vial Size	Catalogue Number	Tests per vial
Anti-Fya	2 ml	774002	40
Monoclonal	1000 ml	774000*	20,000

*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 Flr., 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

1. Reactivii sunt destinați exclusiv diagnosticului *in vitro*.
2. Dacă un flacon cu reactiv este crăpat sau curge, aruncați conținutul imediat.
3. Nu folosiți reactivii după data de expirare (consultați **Eticheta flaconului**).
4. Nu folosiți reactivii dacă observați că s-a format un precipitat.
5. Purați echipament de protecție când manipulați reactivii, cum ar fi mănuși de unică folosință și un halat de laborator.
6. 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.
7. Întrucât plasma din care este fabricat acest reactiv nu mai este delipidată, este normal ca reactivul să aibă un aspect tulbure.
8. 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.
9. 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.
10. 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

1. 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.
2. Tehnicile antiglobulinice pot fi considerate valide numai dacă toate testele negative reacționează pozitiv cu globulele roșii sensibilizate cu IgG.
3. 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.
4. Majoritatea enzimelor proteolitice distrug reactivitatea Fy^b.
5. 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.
6. În **Tehnica cu eprubetă**, un volum reprezintă aproximativ 50 μl cu pipeta flaconului furnizată.
7. 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.
8. 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)

1. Pregătiți o suspensie de 2-3% din globulele roșii în PBS sau soluție salină izotonă.
2. Puneți într-o eprubetă etichetată: 1 volum de reactiv Lorne și 1 volum de suspensie de globule roșii.
3. Amestecați bine și incubați la 37 °C timp de 15 minute.
4. 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.
5. Adăugați 2 volume de AHG Elite sau anti-IgG umană la fiecare buton de celule uscate.
6. Amestecați temeinic și centrifugați toate eprubetele timp de 20 de secunde la 1000 rcf sau la un alt raport adecvat între timp și forță.
7. Resuspendați ușor butonul de hematii și efectuați citirea macroscopică pentru aglutinare.
8. 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

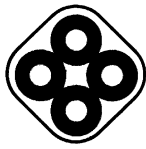
*Această mărime este valabilă numai pentru utilizare de fabricație suplimentară (FFMU) și, prin urmare, nu are marcajul CE.



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



HUMAN BLOOD GROUPING REAGENTS DIRECTIONS FOR USE

Anti-Fy^b Polyclonal: For Indirect Antiglobulin Techniques.

SUMMARY

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

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

INTENDED PURPOSE

The reagent is a blood grouping reagents intended to be used to qualitatively determine the presence or absence of the Fyb antigen (FY2) 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 Fyb antigen on human red cells and will cause indirect agglutination (clumping) of human red cells, that carry the corresponding Duffy b antigen, in the antiglobulin phase of testing. No agglutination (no clumping) generally indicates the absence of the corresponding Duffy b antigen (see **Limitations**).

REAGENTS

Lorne Human Anti-Fy^b blood grouping reagent is prepared from human serum diluted in a sodium chloride solution containing macromolecular potentiators (1.9 g%) 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 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, 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.
- The plasma from which this reagent is manufactured is no longer delipidated, so it is normal for the reagent to have a turbid appearance.
- 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 **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.
- The reagents contain macromolecular potentiators which may cause false positive reactions with IgG sensitised cells, it is recommended that patient's cells are tested with patient's plasma to test for false positive reactions.
- Most proteolytic enzymes destroy Fy^b reactivity.
- 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 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 at least 3 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 AHG Elite or anti-Human 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 card)

- 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 cards as needed.
- Place in appropriate microtube: 50µl of 0.8% 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 a Bio-Rad ID centrifuge.
- Read macroscopically for agglutination.

C. Ortho BioVue Technique (AHG cassette)

- 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

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 Duffy 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 Duffy 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. This reagent contains macromolecular potentiators which may cause false positive reactions with IgG sensitised cells. It is therefore recommended that the patient's cells are tested with the patient's plasma to test for false positive reactions.
3. Antibodies directed at low frequency antigens may occur as unsuspected contaminants in blood grouping antisera. In addition, certain antigens (eg. Bg, Sd^a) can be present in an exalted state on red blood cells. These phenomena may be the source of rare false positive reactions, which may occur with more than one lot of a given specificity.
4. It is not possible to claim the absence of all contaminating antibodies, as red cells carrying antigens of low frequency or exalted antigens are not always available for testing.
5. Suppressed or diminished expression of certain blood group antigens may conversely give rise to false negative results and so caution should always be exercised when assigning genotypes on the basis of test results.
6. False positive agglutination may be seen when testing IgG sensitised cells.
7. False positive results may occur due to Macromolecular potentiators that are present in the reagent
8. 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 presence of contaminating antibodies to antigens with an incidence of 1% or greater within the random population has been excluded either in tests employing the appropriate antigen-negative red cells or in tests employing the reagents previously absorbed to remove the interfering specificities.
3. Antibodies to Xg^a, Do^a, Yt^a, Co^b, Wr^a, Bg^a and V^w may not be excluded in routine specificity testing and detection will depend upon availability of appropriate test cell. This can also be said for Yt^b, M^a and V^w and other low frequency antigens which may not be excluded in routine specificity testing and detection will depend upon availability of appropriate test cells
4. 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 183.
2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 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.

AVAILABLE REAGENT SIZES

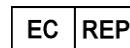
	Vial Size	Catalogue Number	Tests per vial
Anti-Fy ^b Polyclonal	2 ml	317002	40
	1000 ml	317000*	20,000

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

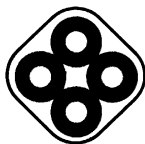


Lorne Laboratories Limited

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-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, 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 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. 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.
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 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 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

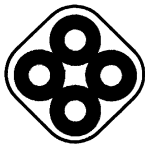
	Vial Size	Catalogue Number	Tests per vial
Anti-Jk ^a Monoclonal	2 ml	775002	40
	1000 ml	775000*	20,000
Anti-Jk ^b Monoclonal	2 ml	776002	40
	1000 ml	776000*	20,000

*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 Flr., Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta
----	-----	---



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. Immediat 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 anemia 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

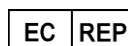
	Mărime flacon	Număr de catalog	Teste per flacon
AHG Elite Lorne (Clear)	10 ml	415010	100
	1000 ml	415000*	10.000
AHG Elite Lorne (Green)	10 ml	435010	100
	1000 ml	435000*	10.000

*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

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