



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 13485:2003 / Cor 1:2009
EN ISO 13485:2012

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

File Number A12241

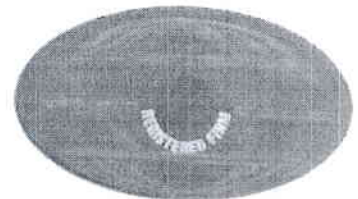
Certificate No. 11640248.PDWS

Effective Date May 23, 2017

Expiry Date February 28, 2019

Authorized by

Michael J. Windler, P.E.
Manager of Global Regulatory Service
Distinguished Member of the Technical Staff
UL Life and Health Sciences
UL LLC



4426



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.



00-MB-S0043 Issue 11.0



UL LLC
353 Pflingsten Road
Northbrook, IL 60062-2096 USA

UL and the UL logo are trademarks of Underwriters Laboratories Inc. © 2011



EC CERTIFICATE

Lorne Laboratories Ltd

Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate,
Danehill, Lower Earley, Berkshire RG6 4UT, UK

EC Certificate - Full Quality Assurance System Approval Certificate

Annex IV, (excluding sections 4 and 6) of Council Directive 98/79/EC on In Vitro
Diagnostic Medical Devices

Scope of Certificate:

**The design and manufacture of in vitro diagnostic reagents for
identification of blood groups**

Device Classification:

Annex II, List A and B

Device Descriptions:

Please refer to Attachment 1

Model:

Please refer to Attachment 1

File Number A12241

Cycle Start Date 23 May 2017

Certificate No. 354.170425

Effective Date 23 May 2017

Expiry Date 22 May 2022

Authorised by

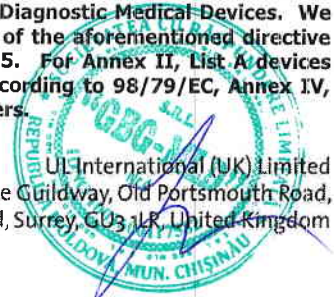
B. Rodgers
Certification Manager

For and on Behalf of UL International (UK) Ltd

We hereby declare that an examination of the full quality assurance system has been carried out per report 11640248 , following the requirements of the national legislation to which the undersigned is subject, transposing Annex IV (with the exemption of sections 4 and 6) of Council Directive 98/79/EC on In Vitro Diagnostic Medical Devices. We certify that the full quality assurance system conforms with the relevant provisions of the aforementioned directive and is subject to periodic surveillance as required by 98/79/EC, Annex IV, Section 5. For Annex II, List A devices where they are covered by this certificate, an EC Design Examination certificate according to 98/79/EC, Annex IV, Section 4 is required. This certificate is issued with 1 attachment listing model numbers.

Notified Body

0843





EC CERTIFICATE

Lorne Laboratories Ltd

Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate,
Danehill, Lower Earley, Berkshire RG6 4UT, UK

Attachment 1 of 1

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

Device Description	Model	Classification
Anti-A Monoclonal	600005/600010/600000	Annex II List A
Anti-B Monoclonal	610005/610010/610000	Annex II List A
Anti-A,B Monoclonal	620005/620010/620000	Annex II List A
Anti-C Monoclonal	690005	Annex II List A
Anti-E Monoclonal	691005	Annex II List A
Anti-c Monoclonal	692005	Annex II List A
Anti-e Monoclonal	693005	Annex II List A
Anti-K Monoclonal	760005/760010	Annex II List A
Anti-D Clone 2 Monoclonal	710010/710000	Annex II List A
Anti-D Clone 1 Monoclonal	730010/730000	Annex II List A
Anti-D Duoclonal Monoclonal	740010/740000	Annex II List A
Anti-Jka Polyclonal	323002/323000	Annex II List B
Anti-Jkb Polyclonal	324002/324000	Annex II List B
Anti-Fyb Polyclonal	317002/317000	Annex II List B
AHG Elite Clear	415010/415100/415000	Annex II List B
AHG Elite Green	435010/435100/435000	Annex II List B
Anti-Fya Monoclonal	774000/774002	Annex II List B
Anti-C+D+E Monoclonal	700005/700010/700000	Annex II List A
Anti-Human IgG Clear	401010/401000	Annex II List B
Anti-Human IgG Green	402010/402000	Annex II List B
Monoclonal Rh Control	640010	Annex II List A
Monoclonal D Negative Control	650010	Annex II List A

File Number A12241
Certificate No. 354.170425

Cycle Start Date 23 May 2017
Effective Date 23 May 2017
Expiry Date 22 May 2022

Authorised by

B. Rodgers
Certification Manager
For and on Behalf of UL International (UK) Ltd

Notified Body
0843

IVDD A4 S3 FQ 00-NB-F0051 Issue: 6.0

Wonersh House, The Guildway, Old Portsmouth Road,
Guildford, Surrey, GU3 1LR, United Kingdom





EC CERTIFICATE

National Health Service Blood & Transplant (NHSBT)

14 Estuary Banks
Liverpool L24 8RB UNITED KINGDOM

EC Certificate - Full Quality Assurance System Approval Certificate

Annex IV (excluding sections 4 and 6) of Council Directive 98/79/EC on In Vitro Diagnostic Medical Devices

Scope of Certificate:

The design and manufacture of in vitro diagnostic medical devices for determining blood groups

Device Classifications:

- Annex II List A
- Annex II List B

Device Descriptions and Model Type:

Please refer to Attachments: 1, 2

We hereby declare that an examination of the full quality assurance system has been carried out following the requirements of the national legislation to which the undersigned is subject, transposing Annex IV (with the exemption of sections 4 and 6) of Council Directive 98/79/EC on In Vitro Diagnostic Medical Devices. We certify that the full quality assurance system conforms with the relevant provisions of the aforementioned directive and is subject to periodic surveillance as required by 98/79/EC, Annex IV, Section 5. For Annex II, List A devices where they are covered by this certificate, an EC Design Examination certificate according to 98/79/EC, Annex IV, Section 4 is required. This certificate is issued with 2 attachments listing product references.

File Number A18088
 Certificate Number 308.181212
 Initial Issue Date December 11, 2003

Cycle Start Date December 12, 2018
 Effective Date December 12, 2018
 Expiry Date December 11, 2023

Authorised by

Paul Daysh
Certification Manager
For and on Behalf of UL International (UK) Ltd

Notified Body
0843

IVDD A4 S3 FQ
00-MB-A0043 Issue: 15.0



Womersley House, The Guildway, Old Portsmouth Road, Guildford, Surrey, GU3 1LR, United Kingdom



EC CERTIFICATE

National Health Service Blood & Transplant (NHSBT)

14 Estuary Banks
Liverpool L24 8RB UNITED KINGDOM

Attachment 1 of 2

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

Model/Type	Classification	G/UMDN Code
A1rr cells Alsevers (10mL 2.8% suspension) PR012	Annex II List A	-
A2rr cells Alsevers (10mL 2.8% suspension) PR022	Annex II List A	-
Brr cells Alsevers (10mL 2.8% suspension) PR033	Annex II List A	-
OR1r cells Alsevers (10mL 2.8% suspension) PR044	Annex II List A	-
A1rr cells in CellStab (10mL 0.8% suspension) PR014	Annex II List A	-
A1rr cells in CellMedia PR015	Annex II List A	-
Brr cells in CellStab (10mL 0.8% suspension) PR035	Annex II List A	-
Brr cells in CellMedia PR036	Annex II List A	-
BR1r cells in Alsevers (10mL 2.8% suspension) PR034	Annex II List A	-
OR1r cells in CellStab (10mL 0.8% suspension) PR045	Annex II List A	-
OR1r cells in CellMedia PR046	Annex II List A	-
2 Cell antibody screen PR101	Annex II List A	-
2 Cell antibody screen in CellStab PR102	Annex II List A	-
2 Cell antibody screen in CellMedia PR103	Annex II List A	-
rr Cell antibody screen in CellStab PR106	Annex II List A	-
rr Cell antibody screen in CellMedia PR108	Annex II List A	-
r'r and r''r Cell antibody screen in CellStab PR107	Annex II List B	-
r'r and r''r Cell antibody screen in CellMedia PR109	Annex II List B	-
Antibody ID panel products in Alsevers PR141/144/201/211	Annex II List B	-
Antibody ID panel products in CellStab PR142/143	Annex II List B	-

File Number A18088
 Certificate Number 308.181212
 Initial Issue Date December 11, 2003

Cycle Start Date December 12, 2018
 Effective Date December 12, 2018
 Expiry Date December 11, 2023

Authorised by

Paul Daysh
 Certification Manager
 For and on Behalf of UL International (UK) Ltd

Notified Body
0843

IVDD A4 S3 FQ
 00-MB-A0043 Issue: 15.0



Wonersh House, The Guildway, Old Portsmouth Road,
 Guildford, Surrey GU3 1LR, United Kingdom



EC CERTIFICATE

National Health Service Blood & Transplant (NHSBT)

14 Estuary Banks
Liverpool L24 8RB UNITED KINGDOM

Attachment 2 of 2

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

Model/Type	Classification	G/UMDN Code
Antibody ID panel products in CellMedia PR162/163	Annex II List B	-
Antibody ID panel products in LI\$P PR146	Annex II List B	-
Antibody ID panel products papainised in Alsevers PR154	Annex II List B	-
Antibody ID panel products papainised in CellStab PR152/153	Annex II List B	-
Antibody ID panel products papainised in CellMedia PR172/173	Annex II List B	-
IgG coated cells PR092	Annex II List B	-
ZZAP Kit PN161	Annex II List B	-
Weak Anti-K Control PN043	Annex II List B	-
Weak Anti-c Control PN042	Annex II List B	-
Weak Anti-Fya Control PN044	Annex II List B	-
Weak Anti-D Control PN046	Annex II List B	-
AB Serum PN061	Annex II List B	-
3 Cell antibody screen PR121	Annex II List B	-
3 Cell antibody screen in CellStab PR122	Annex II List B	-
3 Cell antibody screen in CellMedia PR123	Annex II List B	-
3 Cell antibody screen papainised In Alsevers PR124	Annex II List B	-

File Number A18088
 Certificate Number 308.181212
 Initial Issue Date December 11, 2003

Cycle Start Date December 12, 2018
 Effective Date December 12, 2018
 Expiry Date December 11, 2023

Authorised by

Paul Daysh
 Certification Manager
 For and on Behalf of UL International (UK) Ltd

Notified Body
0843

IVDD A4 S3 FQ
 00-MB-A0043 Issue: 15.0



Check Certificate
 Status: [here](#)

UL International (UK) Limited
 Wonersh House, The Guildway, Old Portsmouth Road,
 Guildford, Surrey, GU3 1LR, United Kingdom



EC DECLARATION OF CONFORMITY

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

Product Name	Catalogue Number
Anti-A Monoclonal	600010

has been classified as List A (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 the Commission Decision on Common Technical Specifications 2009/108/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 IV of Directive 98/79/EC and was carried out by UL International (UK) Ltd, Womersley House, The Guildway, Old Portsmouth Road, Guildford, Surrey GU3 1LR, United Kingdom, Notified Body Number 0843.

The certificates issued by UL-UK Ltd to show compliance are numbers 354.170425 and 355.130523.

This declaration of conformity is issued under the sole responsibility of Lorne Laboratories Ltd and is valid from 23 May 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-B Monoclonal	610010

has been classified as List A (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 the Commission Decision on Common Technical Specifications 2009/108/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 IV of Directive 98/79/EC and was carried out by UL International (UK) Ltd, Womersley House, The Guildway, Old Portsmouth Road, Guildford, Surrey GU3 1LR, United Kingdom, Notified Body Number 0843.

The certificates issued by UL-UK Ltd to show compliance are numbers 354.170425 and 355.130523.

This declaration of conformity is issued under the sole responsibility of Lorne Laboratories Ltd and is valid from 23 May 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-A ₁ Lectin	116005

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 04 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-D Duoclone Monoclonal	740010

has been classified as List A (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 the Commission Decision on Common Technical Specifications 2009/108/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 IV of Directive 98/79/EC and was carried out by UL International (UK) Ltd, Womersley House, The Guildway, Old Portsmouth Road, Guildford, Surrey GU3 1LR, United Kingdom, Notified Body Number 0843.

The certificates issued by UL-UK Ltd to show compliance are numbers 354.170425 and 355.130523.

This declaration of conformity is issued under the sole responsibility of Lorne Laboratories Ltd and is valid from 23 May 2017.



Eddy Velthuis
 Technical Director



File No A12241;
 ISO 13485:2003; ISO 9001:2008

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

Registered office as above. Republic of Moldova No. 94540297. (A) S.A. SIRE 3055 66.



EC DECLARATION OF CONFORMITY

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

Product Name	Catalogue Number
Anti-D Clone 1 Monoclonal	730010

has been classified as List A (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 the Commission Decision on Common Technical Specifications 2009/108/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 IV of Directive 98/79/EC and was carried out by UL International (UK) Ltd, Womersley House, The Guildway, Old Portsmouth Road, Guildford, Surrey GU3 1LR, United Kingdom, Notified Body Number 0843.

The certificates issued by UL-UK Ltd to show compliance are numbers 354.170425 and 355.130523.

This declaration of conformity is issued under the sole responsibility of Lorne Laboratories Ltd and is valid from 23 May 2017.



Eddy Velthuis
 Technical Director



File No A12241;
 ISO 13485:2003; ISO 9001:2008

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

Registered office as above. Registered in Bucharest, Romania. S.R.L. No. 1055/09



EC DECLARATION OF CONFORMITY

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

Product Name	Catalogue Number
Anti-Kell Monoclonal	760010

has been classified as List A (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 the Commission Decision on Common Technical Specifications 2009/108/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 IV of Directive 98/79/EC and was carried out by UL International (UK) Ltd, Womersley House, The Guildway, Old Portsmouth Road, Guildford, Surrey GU3 1LR, United Kingdom, Notified Body Number 0843.

The certificates issued by UL-UK Ltd to show compliance are numbers 354.170425 and 355.130523.

This declaration of conformity is issued under the sole responsibility of Lorne Laboratories Ltd and is valid from 23 May 2017.



Eddy Velthuis
 Technical Director



EC DECLARATION OF CONFORMITY

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

Product Name	Catalogue Number
AHG Elite (Green)	435010

has been classified as 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 IV of Directive 98/79/EC and was carried out by UL International (UK) Ltd, Womersley House, The Guildway, Old Portsmouth Road, Guildford, Surrey GU3 1LR, United Kingdom, Notified Body Number 0843.

The certificates issued by UL-UK Ltd to show compliance are numbers 354.170425 and 355.130523.

This declaration of conformity is issued under the sole responsibility of Lorne Laboratories Ltd and is valid from 23 May 2017.



Eddy Velthuis
Technical Director



File No A12241;
ISO 13485:2003; ISO 9001:2008

Lorne Laboratories Limited Tel: +44 (0) 118 921 226
Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate Fax: +44 (0) 118 986 518
Danehill, Lower Earley Email: info@lornelabs.com
Berkshire RG6 4UT United Kingdom www.lornelabs.com

Registered office as above. Registered in England No. 06511581. Registered in Romania No. 200365566



MONOCLONAL BLOOD GROUPING REAGENTS.



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 %
A	B	A,B	A ₁	A ₂	B	O		
+	0	+	0	0	+	0	A	42
0	+	+	+	+	0	0	B	10
0	0	0	+	+	+	0	O	44
+	+	+	0	0	0	0	AB	4

PRINCIPLE

The reagents will cause direct agglutination (clumping) of test red cells that carry the corresponding ABO antigen. No agglutination generally indicates absence of the corresponding ABO antigen (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. 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	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

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. 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. 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 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. Since these reagents do not contain macromolecular potentiators, it is very unlikely that false positive reactions are caused with IgG coated cells.
3. 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.
4. Individuals older than six months should have their ABO blood-grouping results confirmed by testing their serum or plasma against known group A₁ and B cells before their ABO blood group can be confirmed.
5. In the Recommended Techniques one volume is approximately 50µl when using the vial dropper provided.

6. 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.
7. 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 A2B (positive control) and group O (negative control).
 - Anti-B: group A1B (positive control) and group O (negative control).
 - Anti-A,B: group A1B (positive control) and group O (negative control).
- Test tube centrifuge.
- Validated "U" well microplates.
- 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 of Lorne Anti-ABO reagent and 1 volume of red cell suspension.
3. Mix thoroughly and incubate at room temperature for 1 minute.
4. Centrifuge all tubes for 10 seconds at 1000 rcf or for a suitable alternative time and force.
5. Gently resuspend red cell button and read macroscopically for agglutination
6. Any tubes, which show a negative or questionable result, should be incubated for 15 minutes at room temperature.
7. Following incubation, repeat steps 4 and 5.

B. Bio-Rad-ID Micro Typing Technique

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 of red cell suspension and 25µl of Lorne Anti-ABO reagent.
4. Centrifuge ID-Card(s) in the Bio-Rad gel card centrifuge.
5. Read macroscopically for agglutination.

C. Ortho BioVue Typing Technique

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 Anti-ABO 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 Lorne Anti-ABO reagent and 1 volume 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 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.
- 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 ABO 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 ABO antigen on the red cells.
- Discrepancies: If the results obtained with reverse group don't correlate with forward group, further investigation is required.

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

- ABO antigens are not fully developed at birth and so weaker reactions may therefore occur with cord or neonatal specimens.
- 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.
- 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.
- Stored blood may give weaker reactions than fresh blood.
- 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

- The reagents have been characterised by all the procedures mentioned in the Recommended Techniques.
- Prior to release, each lot of Lorne Monoclonal Anti-A, Anti-B and Anti-A,B is tested by the Recommended Techniques against a panel of antigen-positive red cells to ensure suitable reactivity.
- 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 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
- Lorne Anti-B does not react with "Acquired-B" red cells.
- Lorne Monoclonal ABO reagents do not detect crypt antigens such as T, Tn or Cad.
- The Quality Control of the reagents was performed using red cells that had been washed at least twice with PBS or Isotonic saline prior to use.
- The reagents comply with the recommendations contained in the latest issue of the Guidelines for the UK Blood Transfusion Services.

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

- Kholer G, Milstein C. Continuous culture of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature 1975; 256, 495-497
- Messeter L et al. Mouse monoclonal antibodies with Anti-A, Anti-B and Anti-A,B specificities, some superior to human polyclonal ABO reagents. Vox Sang 1984; 46, 185-194
- Race RR, Sanger R. Blood Groups in Man, 6th Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1975; Chapter 2.
- Mollison PL. Blood Transfusion in Clinical Medicine, 8th Edition, Blackwell Scientific, Oxford 1987; Chapter 7.
- Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6
- BSCH Blood Transfusion Task Force. Guidelines for microplate techniques in liquid-phase blood grouping and antibody screening, Clinical Laboratory Haematology 1990; 12, 437-460.
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. H.M.S.O. Current Edition.
- 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
Anti-A Monoclonal	10 ml	600010
	1000 ml	600000*
	5000 ml	600000X5*
Anti-B Monoclonal	10 ml	610010
	1000 ml	610000*
	5000 ml	610000X5*
Anti-A,B Monoclonal	10 ml	620010
	1000 ml	620000*
	5000 ml	620000X5*

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

TABLE OF SYMBOLS

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



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



REAGENȚII DE GROUP MONOCLONAL.

INSTRUCȚIUNILE DE UTILIZARE

Anti-A, Anti-B și Anti-A, B Monoclonal:

Pentru tuburi, DiaMed-ID, Ortho BioVue, tehnici de microplaci și diapozitive.

REZUMAT

În 1900, Landsteiner a descoperit că serul unor oameni ar aglutina celulele roșii ale altor oameni. Patru fenotipuri comune sunt acum recunoscute: O, A, B și AB. Subgrupurile A și B au fost identificate de atunci.

Grupa de baza A B A,B	Grupul invers A1 A2 B O	AB Fenomen	Caucasieni %
+ 0 +	0 0 + 0	A	42
0 + +	+ + 0 0	B	10
0 0 0	+ + + 0	0	44
+ + +	0 0 0 0	AB	4

PRINCIPIU

Reactivii vor provoca aglutinarea directă (clumping) a celulelor roșii test care poartă antigenul ABO corespunzător. Nici o aglutinare nu indică absența antigenului ABO corespunzător (vezi Limitări).

REACTIV

Lorne Monoclonal IgM Reactivii grupului ABO de sânge conțin anticorpi monoclonali de șoarece diluați într-un tampon fosfat care conține clorură de sodiu, EDTA și albumină bovină. Fiecare reactiv este furnizat la o diluție optimă pentru utilizare cu toate tehnicile recomandate menționate mai jos, fără a mai fi necesară o diluare ulterioară sau plus.

Pentru numărul de referință al lotului și data de expirare, consultați Eticheta flaconului.

Produs	Linie celulară / clonă	culoare	Vopseaua folosită
Anti -A	9113D10	albastru	Brevet albastru
Anti -B	9621A8	galben	Tartrazin
Anti - AB	152D12 + 9113D10	incolor	Nici unul

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. Acest reactiv a fost supus unor studii de stabilitate la transport la 37 ° C și -25 ° C conform descrierii din documentul EN13640: 2002.

EȘANTIONARE ȘI PREGĂTIRE A PROBEI

Probele de sânge trase cu sau fără anticoagulant pot fi utilizate pentru antigen testare. Dacă testarea este întârziată, depozitați speciamentele 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 retragerii. Toate probele de sânge trebuie spălate cel puțin de două ori cu PBS sau cu soluție salină izotonică înainte a fi testat. Probele de sânge 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 conținutul imediat.
3. Nu utilizați reactivii după data expirării (vezi Eticheta flaconului).
4. Nu utilizați reactivii dacă există un precipitat.
5. Îmbrăcămintea de protecție trebuie să fie purtată atunci când manipulați reactivii, de exemplu mănuși de unică folosință și acoperire de laborator.



6. Reactanții au fost introduși printr-o capsulă de 0,2 ml pentru a reduce bio-povară. Odată ce flaconul a fost deschis, conținutul trebuie să rămână viabil până la data de expirare, atâta timp cât nu există turbiditate marcată, care poate indica deteriorarea sau contaminarea reactivilor.
7. Reactivii conțin <0,1% azidă de sodiu. Azida de sodiu poate fi toxică dacă ingerată și poate reacționa cu plumbul și plumbul de cupru pentru a forma exploziv. Înlăturați-le cu cantități mari de apă.
8. Niciun test cunoscut nu poate garanta faptul că produsele derivate din om sau animal sursele sunt libere de agenți infecțioși. Trebuie să se țină seama de utilizarea și eliminarea fiecărui flacon și a conținutului acestuia.

ELIMINAREA REACTIVULUI ȘI DEZVOLTAREA SPĂLĂRILOR

Pentru informații despre eliminarea reactivului și despre decontaminarea unui loc de scurgere consultați Fișele de date privind siguranța materialelor, disponibile la cerere.

CONTROALE ȘI RECOMANDĂRI

1. Se recomandă efectuarea unui test pozitiv și a unui control negativ în paralel cu fiecare lot de teste. Testele sunt considerate nevalide dacă controalele nu indică rezultatele așteptate.
2. Deoarece acești reactivi nu conțin potențiatori macromoleculari, este foarte puțin probabil ca reacțiile false pozitive să fie cauzate de celulele acoperite cu IgG.
3. Eșantioanele de sânge ale subgrupurilor slabe A sau B (de exemplu, Ax) pot da naștere la fals reacții negative sau slabe atunci când sunt testate folosind diapozitive, plăci de microtitrare sau gel carduri. Se recomandă retestarea subgrupurilor slabe folosind tehnica tubului.
4. Persoanele cu vârsta mai mare de șase luni trebuie să aibă rezultatele grupării sangvine ABO confirmate prin testarea serului sau plasmei lor împotriva celulelor A1 și B cunoscute înainte ca grupul sanguin ABO să poată fi confirmat.
5. În tehnicile recomandate, un volum este de aproximativ 50μl când folosind picuratorul de flacon furnizat.
6. Utilizarea reactivilor și interpretarea rezultatelor trebuie efectuate de către personal bine instruit și calificat, în conformitate cu cerințele țării în care reactivii sunt utilizați.
7. Utilizatorul trebuie să determine dacă reactivii sunt adecvați pentru a fi utilizați în altă tehnică.

REACTIVI ȘI MATERIALE NECESARE

- Aplicatori.
- Cititor automat de placă.
- Carduri de identitate DiaMed (Neutru).
- DiaMed ID-Centrifuge.
- DiaMed ID-CellStab sau ID-Diluent 2.
- Diapozitive cu microscop din sticlă.
- Tuburi de testare din sticlă (10 x 75 mm sau 12 x 75 mm).
- Centrifugă cu microplăci.
- Casete de sistem Ortho BioVue (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 cu control pozitiv și negativ:
 - Anti-A: grupul A2B (control pozitiv) și grupa O (control negativ).
 - Anti-B: grupul A1B (control pozitiv) și grupa O (control negativ).
 - Anti-A, B: grupul A1B (control pozitiv) și grupa O (control negativ).
- 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 testate spălate în PBS sau soluție salină izotonică.
2. Puneți într-un tub de etichetare etichetat: 1 volum de reactiv Lorne Anti-ABO și 1 volum din suspensia de test pentru eritrocite.
3. Se amestecă bine și se incubează la temperatura camerei timp de 1 minut.
4. Se centrifughează toate tuburile timp de 10 secunde la 1000 rcf sau pentru o altă perioadă potrivită și forță.
5. Resuspendați ușor butonul de celule roșii și citiți macroscopic pentru aglutinare.
6. Toate tuburile, care prezintă un rezultat negativ sau discutabil, ar trebui incubate timp de 15 minute la temperatura camerei.
7. După incubare, repetați pașii 4 și 5.



B. Tehnica de tipare micro-diaMed-ID

1. Se prepară o suspensie de 0,8% de celule roșii spălate în ID-CellStab sau Diluent ID 2.
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-ABO.
4. Centrifugați cardul (e) de identificare în centrifuga de carton DiaMed.
5. Citiți macroscopic pentru aglutinare.

C. Ortho BioVue tehnica de tastare

1. Se prepară o suspensie de 0,8% de celule roșii testate spălate în 0,9% Ortho Red Cell Diluent.
2. Îndepărtați folia de aluminiu din cât mai multe camere de reacție, după cum este necesar.
3. Amplasați în camera de reacție adecvată: 50μl suspensie de test de eritrocite și 40 pl de reactiv Lorne Anti-ABO.
4. Centrifuge casețele 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 de test spălate în PBS sau izotonică soluție salină.
2. Așezați în godeul corespunzător: 1 volum Lorne Anti-ABO și 1 testul de volum pentru suspensia de celule roșii
3. Se amestecă bine, de preferință folosind un agitator de microplăci, având grijă să evitați 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 o alternativă adecvată timp și forță.
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 izotonică.
2. Așezați pe o placă de sticlă etichetă: 1 volum de reactiv Lorne Anti-ABO și 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 scuzați firele de fir ca aglutinare.
6. Orice reacție slabă trebuie repetată prin tehnica tubului.

INTERPRETAREA REZULTATELOR TESTELOR

1. *Positive:* Aglutinarea celulelor roșii de test constituie un rezultat pozitiv al testului și în limitele acceptate de procedura de testare, indică prezența antigenul ABO corespunzător pe celulele roșii de testare.
2. *Negativ:* nici o aglutinare a celulelor roșii de test nu reprezintă un rezultat negativ și în limitele acceptate ale procedurii de testare, indică absența antigenului ABO adecvat pe celulele roșii de test.
3. *Discrepanțe:* Dacă rezultatele obținute cu grupul invers nu se corelează cu este necesară o investigație suplimentară.

STABILITATEA REACȚIILOR

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

LIMITAREA

1. Antigenii ABO nu sunt pe deplin dezvoltați la naștere și pot avea reacții mai slabe prin urmare, apar cu cordon sau specimene neonatale.
2. Atunci când utilizați monoclonale Anti-A, B, specimene de sânge de slabă A sau B subgrupele (de exemplu, Ax) pot da naștere la reacții false sau slabe atunci când testate cu diapozitive, plăci de microtitrare sau carduri de gel. Se recomandă testarea subgrupuri slabe folosind tehnica tubului.
3. Anti-A monoclonal Lorne și monoclonal Anti-B nu sunt validate pentru a detecta Axele și antigenele A3 sau Bx și B3 resp. reactivitatea reactivului monoclonal Anti-A sau Anti-B împotriva acestor slabici A și subgrupurile B.
4. Sângele stocat poate produce reacții mai slabe decât sângele proaspăt.
5. 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
- Probele de cord contaminate cu jeleu Wharton

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-A, Anti-B și Anti-A, B este testat prin tehnicile recomandate împotriva unui grup de antigene pozitive celulele roșii pentru a asigura o reactivitate adecvată.
3. Specificitatea anticorpilor monoclonali sursă este demonstrată utilizând un panou de celule cu antigen-negativ.
4. Eficacitatea reactivilor a fost testată contra următorului minim potențiale standarde de referință obținute de la Institutul Național de Biologie Standarde și controale (NIBSC): Standard de referință anti-A 03/188 și / sau Or Standardul de referință anti-B 03/164
5. Lorne Anti-B nu reacționează cu celulele roșii "Acquired-B".
6. Reactivii ABO monoclonali Lorne nu detectează antigeni criptici cum ar fi T, Tn sau Cad.
7. Controlul calității reactivilor a fost efectuat utilizând celulele roșii care au avut a fost spălat cel puțin de două ori cu PBS sau cu soluție salină izotonică înainte de utilizare.
8. Reactivii respectă recomandările din ultima ediție din Ghidul pentru serviciile britanice de transfuzie de sânge.

DECLINAREA RESPONSABILITĂȚII





1. Utilizatorul este responsabil pentru performanța reactivilor prin orice metodă altele decât cele menționate în Tehnicile recomandate.
2. Orice abatere de la tehnicile recomandate trebuie validată înainte de a utiliza.

DIMENSIUNI DISPONIBILE REACTIVI

	<i>Dimensiune flacon</i>	<i>Numar Catalog</i>
Anti-A Monoclonal	10ml	600010
	1000ml	600000*
Anti-B Monoclonal	10ml	610010
	1000ml	610000*
Anti-AB Monoclonal	10ml	620010
	1000ml	620000*

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

TABEL SIMBOLURI

LOT	Batch Number	IVD	<i>In-vitro</i> Diagnostic
REF	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@ornelabs.com





LECTIN BLOOD GROUPING REAGENTS
DIRECTIONS FOR USE

Anti-A₁ Lectin: For Tube Technique.

SUMMARY

A₁ antigen is a subgroup of A and was discovered in 1910. Anti-A₁ is usually non-reactive at 37°C, however examples reactive at 37°C and predominately IgM can cause *in vivo* red blood cell destruction. About 78% of group A people are A₁ and 22% are A₂, similar proportions apply among AB people.

PRINCIPLE

The reagent will cause agglutination (clumping) of red cells, that carry the A₁ antigen, after centrifugation. No agglutination generally indicates the absence of the A₁ antigen (see **Limitations**).

REAGENT

Lorne Anti-A₁ Lectin blood grouping reagent is prepared from an extract of *Dolichos biflorus* seeds, diluted with a sodium chloride solution containing bovine albumin. The 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 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. 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. 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 group A₁B cells) and a negative control (group A₂ cells) be tested in parallel with each batch of tests. Tests must be considered invalid if controls do not show expected results.
2. In the **Recommended Techniques** one volume is approximately 50µl when using the vial dropper provided.
3. 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 reagent is in use.
4. User must determine suitability of the reagent for use in other techniques.

REAGENTS AND MATERIALS REQUIRED

- 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).
- Positive (group A₁B) and negative (group A₂) control red cells.
- Test tube centrifuge.
- 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-A₁ reagent and 1 volume red cell suspension.
3. Mix thoroughly and then centrifuge all the 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

INTERPRETATION OF TEST RESULTS

1. **Positive:** Agglutination of red cells constitutes a positive test result and within the accepted limitations of the test procedure, indicates the presence of A₁ antigen on the red cell.
2. **Negative:** No agglutination of red cells constitutes a negative result and within the accepted limitations of the test procedure, indicates the absence of A₁ 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. Tube tests must be read immediately after centrifugation. Delays may cause 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. Anti-A₁ may react with Tn-polyagglutinable or Cad-positive cells
2. Cord blood and specimens from infants cannot be accurately typed using Anti-A₁ Lectin since the A₁ antigen is not fully developed on red blood cells until the age of six months.
3. Individuals older than six months should have their ABO blood-grouping results confirmed by testing their serum or plasma against known group A₁ and B cells before their ABO blood group can be confirmed.
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

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

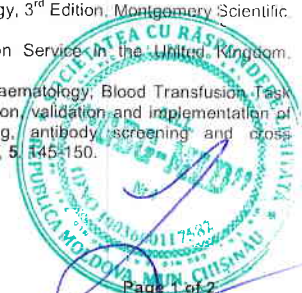
1. The reagent has been characterised by all the procedures mentioned in the **Recommended Technique**.
2. Prior to release, each lot of Lorne Anti-A₁ Lectin reagent is tested by the **Recommended Technique** against a panel of antigen-positive red cells to ensure suitable reactivity.
3. The Quality Control of the reagent was performed using red cells that had been washed twice with PBS or Isotonic saline prior to use.
4. The reagent complies with the recommendations contained in the latest issue of the Guidelines for the UK Blood Transfusion Services.

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. 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 Test 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
5 ml	116005
1000 ml	116000*

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

For the availability of other sizes, please contact:

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

TABLE OF SYMBOLS

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





LORNE LABORATORIES LTD.
GREAT BRITAIN



REAGENTI LECTIN ai GRUPELOR SANGVINE

APLICATII. Anti-A₁ Lectin: pentru Tehnica in Tub

INSTRUCȚIUNILE DE UTILIZARE

SUMAR

Antigenul A1 este un subgrup al A și a fost identificat în 1910. Anti-A1 este de obicei nereactiv la 37 ° C, cu toate acestea exemplele reactive la 37 ° C și IgM predominant poate provoca distrugerea celulelor in vivo roșii din sânge. Aproximativ 78% din grupa A sunt persoane A1 și 22% sunt A2, se aplică în rândul persoanelor AB proporții similare.

PRINCIPII

Reagentul va cauza aglutinarea celulelor rosii testate, care poarta antigenul A1. Lipsa aglutinarii in general nu indica lipsa antigenului A1 (a se vedea **Limitarile**).

REAGENTI

Reactivul grupei sanguine Lorne anti-A1 Lectină se prepara dintr-un extract de semințe *Dolichos biflorus*, diluat in soluția de clorură de sodium ce contine albumină bovină. Reagentul este furnizat in diluție optimala pentru utilizare cu toate tehnicile recomandate, mentionate mai jos, fără necesitatea de dilutii ulterioare sau adaosuri. Pentru identificarea numarului Lotului si a termenului de expirare a se vedea **Eticheta Flaconului**.

CONDITII DE PASTRARE

Flacoanele cu reagent trebuie sa fie pastrate la 2-8°C la primire. Pastrarea indelungata la o alta temperature decit cea mentionata poate duce la pierderea rapida a reactivitatii reagentului. Acest reagent a fost testat la conditii de transportare +37°C si -25°C, precum este mentionat in documentul EN13640:2002.

COLECTAREA SI TRANSPORTAREA PROBELOR

Probele de sange colectate cu sau fara anticoagulant pot fi utilizate pentru tiparirea antigenului. Daca testarea se face mai tirziu, atunci pobele se stocheaza la 2-8°C. Probele cu EDTA si citrate trebuie sa fie testate in timp de 7 zile dupa colectare. Probele colectate ACD, CPD, CPDA-1 poate fi testat timp de pina la 35 zile din data colectarii. Toate probele de sange trebuie sa fie spalate cel putin de doua ori cu PBS sau solutie izotonica salina inainte de testare.

PRECAUTII

1. Reagentul este destinat doar pentru diagnosticul *in vitro*.
2. Daca flaconul cu reagent este stricat, ne ermetic inchis, acesta trebuie sa fie aruncat imediat.
3. Nu utilizati reagentii cu termen expirat (a se vedea pe **Eticheta flaconului**).
4. Nu utilizati reagentul daca este present precipitatul.
5. Purtati haine de protective in timpul utilizarii reagentului, precum manusi si halat.
6. Reagentul a fost filtrate prin filter de 0,2μ, pentru a inlatura pericolul biologic. Astfel, odata ce flaconul a fost deschis, continutul poate fi utilizat pina la sfirsitul termenului de expirare, daca nu este presenta careva turbiditate in flacon, care poate indica asupra prezentei deteriorarii sau contaminarii.
7. Reagentul contine <0,1% de acizi de sodium. Acesta poate fi toxic la ingerare si poate reactiona cu cupru si staniu plumbuit si forma azide de metale cu effect exploziv. La expunere, spalati abundanț cu apa.
8. Nici o metoda de testare cunoscuta nu poate garanta lipsa agentilor infectiosi in produsele derivate din material de origine umana sau biologica. Atentie se ia utilizare si distrugerea fiecarui flacon si a continutului acestuia.



PROCEDURI DE DISTRUGERE A REAGENTULUI SI DE PROTECTIE IN CAZUL SCURGERII

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

CONTROALE SI SFATURI

1. Se recomanda utilizarea in paralel a controalelor pozitiv (ideal celulele A₁B) si el negative (celule A₂) la efectuarea testarii fiecarui set de probe. Testele trebuie considerate invalide în cazul în care controalele nu afișează rezultatele așteptate.
2. In **Tehnicile Recomandate** un volum se considera de cca 50μl la utilizarea flaconului cu pipeta oferit.
3. Utilizarea reagentilor si interpretarea rezultatelor trebuie sa fie efectuata de personal antrenat si calificat in corcondanta cu cerintele tarii unde acesti reagent se folosesc.
4. Utilizatorul trebuie sa determine utilitatea reagentului in alte tehnici decit cele mentionate.

REAGENTI SI MATERIALE NECESARE

1. Tuburi de testare din sticla (10 x 75 mm or 12 x 75 mm).
2. Solutia PBS (pH 6.8–7.2) sau Solutia salina Izotonica (pH 6.5–7.5).
3. Control de celule rosii pozitive (grup A₁B) si negative (A₂).
4. Tub de testare centrifuga.
5. Pipette volumetrice.

TEHNICI RECOMANDATE

1. Preparati o suspenzie de celule 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 suspenzie de celule 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 celule rosii si cititi aglutinarea microscopica.

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 A₁ de pe celulele rosii de testare.
2. Negative: lipsa aglutinarii celulelor rosii de testare constituie rezultatul negative si in lilitile acceptate a procedurii de testare, indicind absenta antigenului A₁ corespunzator de pe celulele rosii de testare.
3. Discrepante: in cazul în care rezultatele obținute cu gruparea inversă nu se corelează cu grupul înainte, sunt necesare investigații suplimentare.

STABILITATEA REACTIILOR

1. Citirea imediata a rezultatelor dupa centrifugare. Latenta poate rezulta in disocierea complexului antigen-anticorp, cauzind rezultate fals negative sau positive slabe.
2. Precautia trebuie luata in interpretarea rezultatelor testului realizat la temperaturile altele decit cele recomandate.

LIMITARILE

1. Anti-A1 poate reacționa cu celule-polyagglutinabile sau Tn Cad-pozitive.
2. sânge din cordonul ombilical și specimene de la sugari nu pot fi introduse corect cu ajutorul anti-A1 Lectină, deoarece antigenul A1 nu este pe deplin dezvoltat pe celulele roșii din sânge, până la vârsta de șase luni.
3. Persoanele mai mari de șase luni ar trebui sa aiba a lor rezultate a ABO grupelor sanguine, confirmate prin testarea ser sau plasma împotriva celulelor cunoscute de A1 și B, înainte ca grupa lor de sânge ABO sa poata fi confirmata.
4. Single stocat poate da reactii mai slabe decit single prospat.
5. 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 Rehnici Recomandate.
2. Inaintea eliberarii, fiecare lot a reagentului Lorne Anti-A₁ este testat prin Tehnicile Recomandate contra panelului de cellule rosii antigen pozitive pentru asigurarea reactivitatii corespunzatoare.
3. 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.
4. 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 obținută 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. 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.

DIMENSIUNI DISPONIBILE REACTIVI








Dimensiune flacon	Numar Catalog
5ml	116005
1000ml	116000*

* Acest format este doar pentru utilizare in productie 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</i> Diagnostic
	Catalogue Reference		Store At
	Expiry Date		Manufacturer
	Read Pack Insert		



MONOCLONAL BLOOD GROUPING REAGENTS.



LORNE
LABORATORIES



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 %	Afro-Americans %
+	Rh D +ve	85	72
0	Rh D -ve	15	28

PRINCIPLE

The reagents will cause direct agglutination (clumping) of test red cells that carry the D antigen. No agglutination generally indicates the absence of the D antigen (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 (3 g%) and macromolecular potentiators. When typing patient samples, each reagent will directly agglutinate Rh D positive cells, including majority of variants (but not D^{vi}) and a high proportion of weak D (D^w) phenotypes when using the recommended techniques. 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^w 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^{vi} 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^{vi} 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

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. 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 R₁r cells), a negative control

- (ideally rr cells) and a reagent negative control (such as Lorne Negative Control, catalogue # 650010) 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 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. 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.
4. In the Recommended Techniques one volume is approximately 50 µl when using the vial dropper provided.
5. 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.
6. 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 R₁r) and negative (rr) control red cells.
- Test tube centrifuge.
- Validated "U" well microplates.
- 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 of Lorne Anti-D 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 negative or questionable result (as can happen with weak D samples), should be incubated for 15 minutes at room temperature.
6. Following incubation, repeat steps 3 and 4.

B. Bio-Rad-ID Micro Typing Technique

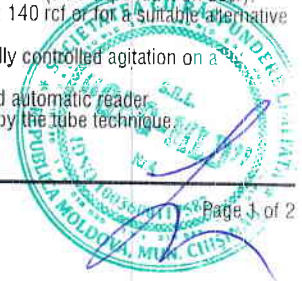
1. Prepare a 0.8% suspension of red cells in ID-CellStab or ID-Diluent 2.
2. Remove aluminium foil from as many microtubes as needed.
3. Place in appropriate microtube: 50 µl of red cell suspension and 25 µl of Lorne Anti-D reagent.
4. Centrifuge ID-Card(s) in a Bio-Rad gel card centrifuge.
5. Read macroscopically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

C. Ortho BioVue Typing 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: 50 µl of red cell suspension and 40 µl of Lorne Anti-D 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 Lorne Anti-D reagent and 1 volume 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 dependent 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 its own plasma).
2. Place on a labelled glass slide or card tile: 1 volume of Lorne Anti-D 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 D 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 D 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. Lorne Anti-D is not suitable for use with enzyme treated cells, cells suspended in LISS or for use in indirect antiglobulin (IAT) techniques.
2. Stored blood may give weaker reactions than fresh blood.
3. False positive agglutination may be seen due to the presence of macromolecular potentiators in the reagent when testing IgG sensitised cells, e.g. AIHA, HDN.
4. 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. The reagents have been characterised by all the procedures mentioned in the Recommended Techniques.
2. Prior to release, each lot of Lorne Monoclonal Anti-D Clone1 and Anti-D Clone 2 is tested by the Recommended Techniques against a panel of antigen-positive red cells to ensure suitable reactivity.
3. Anti-D grouping reagents for D grouping of patients should not react with D⁰ cells using the method(s) recommended for use.
4. Specificity of source monoclonal antibodies is demonstrated using a panel of antigen-negative cells.
5. 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.
6. The Quality Control of the reagents was performed using red cells that had been washed twice with PBS or Isotonic saline prior to use.
7. The reagents comply with the recommendations contained in the latest issue of the Guidelines for the UK Blood Transfusion Services.

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







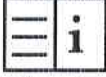
8. *Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom*. H.M.S.O. Current Edition.
9. British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force. Recommendations for evaluation, validation and implementation of new techniques for blood grouping, antibody screening and cross matching. *Transfusion Medicine*, 1995, 5, 145-150.

AVAILABLE REAGENT SIZES

	Vial Size	Catalogue Number
Anti-D Clone 1 Monoclonal	10 ml	730010
	1000 ml	730000*
	5000 ml	730000X5*
Anti-D Clone 2 Monoclonal	10 ml	710010
	1000 ml	710000*
	5000 ml	710000X5*

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

TABLE OF SYMBOLS

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



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



0843

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 DVI 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 DVI.

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 fiteriți printr-o capsulă de 0,2 μm 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 teste 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 taștați 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 (e) 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 la firele 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 enzimatice 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 utilizare.

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

LOT	Batch Number	IVD	<i>In-vitro</i> Diagnostic
REF	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



MONOCLONAL BLOOD GROUPING REAGENTS.



LORNE
LABORATORIES



0843

DIRECTIONS FOR USE

Anti-D Duoclone Monoclonal:

For Tube, Bio-Rad/DiaMed-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	85	72
0	Rh D -ve	15	28

PRINCIPLE

The reagent will cause direct agglutination (clumping) of test red cells that carry the D antigen and indirect agglutination of red cells that are Category D^{VI} in the antiglobulin phase of testing. No agglutination generally indicates the absence of the D antigen (see Limitations).

REAGENT

Lorne Monoclonal Anti-D Duoclone 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 (3 g%) and macromolecular potentiators. When typing patient samples, this reagent will directly agglutinate Rh D positive cells, including majority of variants (but not D^{VI}) and a high proportion of weak D (D^{VI}) phenotypes when using the recommended techniques. 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^{VI} 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^{VI} is a partial D category which misses most D epitopes. Duoclone reagent will detect most examples of partial and weak D red cells by direct agglutination, but will not detect D^{VI} cells. This reagent will detect D^{VI} 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. It is advisable 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. 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^{VI} determination by the Indirect Antiglobulin, Coombs Bio-Rad/DiaMed-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. In the Recommended Techniques one volume is approximately 50µl when using the vial dropper provided.
7. 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.
8. 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/DiaMed ID-Cards (LISS/Coombs) and (Neutral).
- Bio-Rad/DiaMed ID-Centrifuge.
- Bio-Rad/DiaMed ID-CellStab or ID-Diluent 2.
- Bio-Rad/DiaMed ID-Incubator equilibrated to 37°C ± 2°C.
- Glass microscope slides.
- 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^{VI})

A. Tube Technique

1. Prepare a 2-3% suspension of washed red cells in PBS or Isotonic saline.
2. Place in a labelled test tube: 1 volume of Lorne Duoclone reagent and 1 volume of test 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^{VI} or weak D samples), should be incubated for 15 minutes at room temperature.
6. Following incubation, repeat steps 3 and 4.

B. Bio-Rad/DiaMed-ID Micro Typing Technique (Neutral cards)

1. Prepare a 0.8% suspension of washed 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 Duoclone reagent.
4. Centrifuge the ID-Card(s) in a Bio-Rad/DiaMed gel card centrifuge.
5. Read macroscopically for agglutination.

C. Ortho BioVue Typing Technique (Neutral cards)

1. Prepare a 0.8% suspension of washed 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 washed red cells in PBS or Isotonic saline.
2. Place in the appropriate well: 1 volume of Lorne Duoclone reagent and 1 volume of test 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 test red cells in serum, plasma or PBS or Isotonic saline.
- Place on a labelled glass slide: 1 volume of Lorne Duoclone 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.

RECOMMENDED TECHNIQUES (TO DETECT CATEGORY D⁺)

A. Indirect Antiglobulin Technique (IAT)

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

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

- Prepare 0.8% suspension of washed 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 Duoclone.
- Incubate the ID-Card(s) for 15 minutes at 37°C.
- Centrifuge the ID-Card(s) in a Bio-Rad/DiaMed gel card centrifuge.
- Read macroscopically for agglutination.

C. Ortho BioVue Typing Technique (AHG/Coombs cards)

- Prepare a 0.8% suspension of washed test 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 Duoclone.
- 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 D antigen on the test 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 test 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.
- 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.
- Slide tests should be interpreted within 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.
- 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 or cells suspended in LISS.
- 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.

- Stored blood may give weaker reactions than fresh blood.
- False positive agglutination may be seen when testing IgG sensitised cells.
- 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

- The reagent has been characterised by all the procedures mentioned in the Recommended Techniques.
- Prior to release, each lot of Lorne Monoclonal Anti-D Duoclone is tested by the Recommended Techniques against a panel of antigen-positive red cells to ensure suitable reactivity.
- Specificity of source monoclonal antibodies is demonstrated using a panel of antigen-negative cells.
- 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.
- The Quality Control of the reagent was performed using red cells that had been washed twice with PBS or Isotonic saline prior to use.
- The reagent complies with the recommendations contained in the latest issue of the Guidelines for the UK Blood Transfusion Services.

DISCLAIMER

- The user is responsible for the performance of the reagent by any method other than those mentioned in the Recommended Techniques.
- Any deviations from the Recommended Techniques should be validated prior to use².

BIBLIOGRAPHY

- Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition, Montgomery Scientific, Miami, 1985, Chapter 10.
- Mollison PL. Blood Transfusion in Clinical Medicine, 8th Edition, Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1987, Chapter 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
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. H.M.S.O. Current Edition.
- 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
10 ml	740010
1000 ml	740000*
5000 ml	740000X5*

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

TABLE OF SYMBOLS

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



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
INSTRUCȚII DE UTILIZARE

#referinta a documentului 0843

Anti-D Duoclon: pentru Tehnici in Tub, Bio-Rad/ DiaMed-ID, Ortho BioVue, Microplaci si Slide-uri

SUMAR

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

Anti-D	Fenotip	Populatia Caucaziana %	Populatia Afro-Americana %
+	Rh D+ve	85	72
0	Rh D-ve	15	28

PRINCIPIU

Reactivul va provoca aglutinarea directă (clumping) la testarea celulelor roșii care poartă antigenul D și aglutinarea indirectă a celulelor roșii care sunt de Categoria Dvi în faza antiglobulină de testare. Lipsa aglutinării în general nu indică lipsa antigenului D (a se vedea Limitările).

REAGENTI

Reactivul grupei sanguine Lorne Monoclonal Anti-D duoclon este un reactiv scăzut de proteine conținând un amestec de reactivi IgM monoclonal uman și IgG anti D, diluat într-un tampon fosfat care conține clorură de sodiu (0,9 g%), albumină bovină (3 g%) și potențiatori macromoleculari. La introducerea eșantioanelor pacientului, reactivul va aglutina direct celule Rh D pozitive, incluzând majoritatea variantelor (dar nu Dvi) și o proporție mare de fenotipuri D slab (Du) atunci când se utilizează tehnici recomandate. 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.

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

EXPRESII FAȚA DE ANTIGENUL RhD

Termenul comun Du este folosit pe scară largă pentru a descrie celulele roșii care au o valoare mai slabă a expresiei antigenului D decât în mod normal. Termenul "slab D" denotă indivizi cu un număr redus de situsuri antigenice D complete pe celula roșie. Termenul parțial D denotă indivizi cu epitop de antigen D lipsă. DVI este o categorie parțială D care ratează cele mai multe epitopi D. Reactivul Duoclon va detecta cele mai multe exemple de celulele roșii parțială și slabă D prin aglutinare directă, dar nu vor detecta celulele DVI. Acest reactiv va detecta celulele DVI și D parțiale în faza IAT.

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 BS EN ISO 23640:2015.

COLECTAREA SI TRANSPORTAREA PROBELOR

Probele de sânge colectate în EDTA, citrate, CPDA anticoagulant sau ca o probă coagulată. Probele trebuie testate cât mai curând posibil după colectie. Dacă testarea se face mai târziu, atunci probele se stochează la 2-8°C. Probele care indică hemoliză brută sau contaminare microbiană nu ar trebui să fie utilizate pentru testare. Toate probele de sânge trebuie să fie spălate cel puțin de două ori cu PBS sau soluție izotonică salină înainte de testare.

PRECAUTII

Reagentul este destinat doar pentru diagnosticul *in vitro*.

Dacă flaconul cu reagent este stricat, ne ermetic închis, acesta trebuie să fie aruncat imediat.

Nu utilizați reagenții cu termen expirat (a se vedea pe Eticheta flaconului).

Nu utilizați reagentul dacă este prezent precipitatul.

Purtați haine de protecție în timpul utilizării reagentului, precum măști și halat.

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 careva turbiditate în flacon, care poate indica asupra prezentei deteriorării sau contaminării.

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.

Materialele utilizate pentru producerea reagenților au fost testate pentru a fi negative la anticorpii HIV 1+2, HCV și HBsAg prin metode microbiologice aprobate.

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

-Se recomandă utilizarea în paralel a controalelor pozitive (ideal R1r cells) și cele negative (ideal rr cells) la efectuarea testării fiecărui set de probe. Testele trebuie considerate invalide în cazul în care controalele nu afișează rezultatele așteptate.



- Când testați celulele roșii de la un pacient diagnosticat cu o boală determină ca celulele roșii să fie acoperite cu anticorpi sau alte proteine (cum ar fi ca HDN, AIHA), este important să testați celulele roșii ale pacientului utilizând Lorne's reactiv negativ de control (Monoclonal D Negative Control, catalog # 650010). Testele trebuie considerate nevalabile dacă celulele roșii sunt agglutinate utilizând controlul negativ al lui Lorne D (catalogul nr. 650010).
- Eșanțioanele de testare sunt numai pentru tehnicele pentru determinarea categoriei DVI de către Antiglobulina Indirectă, Coombs Bio-Rad / DiaMed-ID și Coombs Ortho BioVue.
- Antigenele slabe și variantă D slab detectate cu ajutorul cardului de gel, placă de microtitrare și tehnici de slide. Se recomandă ca variantele slabe și parțiale să fie testat folosind tehnica de testare a tubului.
- Tehnica în tub antiglobulinică poate fi considerată validă numai dacă toate testele negative reacționează pozitiv cu celulele roșii sensibile la IgG.
- În tehnicile recomandate, un volum este de aproximativ 50μl când folosind picuratorul de flacon furnizat.
- Utilizarea reagentilor și interpretarea rezultatelor trebuie să fie efectuată de personal antrenat și calificat în concordanță cu cerințele țării unde acest reagent se folosește.
- Utilizatorul trebuie să determine utilitatea reagentului în alte tehnici decât cele menționate.

REAGENTI SI MATERIALE NECESARE

- Celulele anti-umane, de ex. Lorne AHG Elite (Cat # 435010) sau Anti-Human IgG de ex. Lorne IgG anti-uman (Cat # 402010).
- Stick-uri.
- Cititor de placă automat.
- Spălător cu celule Coombs
- Carduri de identificare Bio-Rad / DiaMed (LISS / Coombs) și (Neutru).
- Centrifugă ID Bio-Rad / DiaMed.
- ID-CellStab sau ID-diluant Bio-Rad / DiaMed
- Incubatorul ID-uri Bio-Rad / DiaMed echilibrat la 37°C ± 2°C.
- Sliduri din sticlă pentru microscop.
- Tuburi de testare din sticlă (10 x 75 mm or 12 x 75 mm).
- Celule roșii sensibile la IgG, de ex. Celulele de control Lorne Coombs (Cat # 970010).
- Centrifuga microplacă.
- Casete Ortho BioVue System (AHG / Coombs) și (Neutru).
- Ortho BioVue System Centrifuge.
- Blocul de căldură al sistemului Ortho BioVue echilibrat la 37°C ± 2°C.
- Diluents pentru celule roșii Ortho 8%.
- Shaker.
- Soluția PBS (pH 6.8–7.2) sau Soluția salină Izotonică (pH 6.5–7.5).
- Control de celule roșii pozitiv (ideal R,r) și negative (rr)
- Tub de testare centrifuga.
- Godeuri "U" validate.
- Pipete volumetrică
- Baia de apă sau incubatorul de căldură uscată echilibrată la 37 ° C ± 2 ° C.

TEHNICI RECOMANDATE

A.TEHNICA IN TUB

1. Preparați 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 Duoclone și 1 volum de suspensie de celule roșii de testare.
3. Amestecați minucios și centrifugați toate tuburile timp de 20 secunde la 1000 rcf sau utilizați alți parametri corespunzători de timp și viteză de centrifugare.
4. Resuspendați atent conglomeratul de celule roșii și citiți aglutinarea microscopică.
5. Orice tub care prezintă rezultat negativ sau dubios (care se poate întâmpla cu Du sau D slab) trebuie incubat la temperatura camerei timp de 15 minute.
6. După incubare, repetați pașii 3 și 4.

B.TEHNICA de MICROTIPARE Bio-Rad/DiaMed-ID(Carduri neutrale)

1. Prepararea suspensiei de 0,8% a celulelor roșii spălate în ID-CellStab sau ID-Diluent 2.
2. Înălțurați folia de aluminiu de pe microtuburi cît e necesar.
3. Plasati în tuburile corespunzătoare: 50μl de soluție suspensie celule roșii de testare și 25μl de reagent duoclone Lorne.
4. Centrifugați ID-Card(s) în Centrifuga de gel card Bio-Rad/ DiaMed.
5. Citiți rezultatul aglutinării macroscopice.

C.TEHNICA DE TIPARE Ortho Bio Vue(Carduri neutrale)

1. Prepararea suspensiei de 0,8% a celulelor roșii spălate în 0,8% Ortho Red Cell Diluent.
2. Înălțurați folia de aluminiu de pe cît mai multe camere de reactive, după cum este necesar.
3. Plasati în camera de reactive corespunzătoare: 50μl de soluție suspensie celule roșii și 40 μl de reagent Lorne Duoclone.
4. Centrifugați casetele timp de 5 minute în centrifuga Ortho BioVue System.
5. Citiți rezultatul aglutinării macroscopice.

D.TEHNICA Microplaca, utilizind godeuri "U"

1. Preparați o suspensie de celule roșii spălate 2-3% în PBS sau soluție izotonică salină.
2. Adăugați în godeurile corespunzătoare: 1 volum de reagent Lorne Duoclone și 1 volum de suspensie de celule roșii de testare
3. Agitați minucios, de preferință folosind un agitator pentru microplăci, avînd grijă să se evite contaminarea încrușișată.



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 reactii slabe trebuie repetate prin Tehnica in tub.

E. TEHNICA SLIDE

1. Preparati o suspensie de celule 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 Duoclonal si 1 volum de suspensie de celule rosii de testare.
3. Cu ajutorul unui aplicator curat, amestecati reactivul si celulele pe o suprafata de aproximativ 20 x 40 mm.
4. Inclinati incet slide-ul inainte si inapoi timp de 30 de secunde, cu amestecare ocazionala timp de 1 minut, mentinand slide-ul la temperatura camerei.
5. Cititi macroscopic dupa 1 minut, la o lumina difuza si sa nu gresiti filamentele de fibrina ca si aglutinarea.
6. Orice reactii slabe trebuie repetate prin Tehnica in tub.

TEHNICI RECOMANDATE (PENTRU DETECTAREA CATEGORIEI Dvi)

A. Tehnica antiglobulină indirectă (TAI sau IAT)

1. Preparati o suspensie de celule rosii spalate 2-3% in PBS sau solutie izotonica salina.
2. Adaugati in tubul marcat pentru testare: 1 volum de reagent Lorne Duoclone si 1 volum de suspensie de celule rosii de testare.
3. Amestecati minuțios și incubați la 37°C 15 minute.
4. Se spală celulele roșii de testare de 4 ori cu PBS sau cu soluție salină izotonică, având grijă să se decanteze soluție salină între spălări și resuspendați fiecare conglomerat celular după fiecare spălare. Completați soluția salină după ultima spălare.
5. Adăugați 2 picături de globulină anti-umană sau anti-IgG la fiecare conglomerat de celule uscate.
6. Amestecati minuțios și centrifugati toate tuburile timp de 20 secunde la 1000 rcf sau utilizati alti parametrii corespunzatori de timp și viteză de centrifugare.
7. Resuspendati atent conglomeratul de celule rosii și cititi aglutinarea microscopica.
8. Confirmați validitatea tuturor reacțiilor negative cu celule roșii sensibile la IgG.

B. Tehnica micro-tipării Bio-Rad / DiaMed-ID (carduri LISS / Coombs)

1. Se prepară o suspensie de 0,8% de celule roșii spălate în ID-CellStab sau ID-Diluent 2.
2. Îndepărtați folia de aluminiu din cât mai multe microtuburi, după cum este necesar.
3. Amplasați în microtubul corespunzător: 50μl suspensie de celule roșii și 25μl de Lorne Duoclone.
4. Incubați cardurile ID timp de 15 minute la 37 ° C.
5. Centrifugați cardurile ID într-o centrifugă gel card Bio-Rad / Diamed.
6. Cititi rezultatul aglutinării macroscopice.

C. Tehnica de tipare Ortho BioVue (carduri AHG / Coombs)

1. Se prepară o suspensie de 0,8% de celule roșii testate spălate în 0,9% Ortho Red Cell Diluent.
2. Îndepărtați folia de aluminiu din cât mai multe camere de reacție, după cum este necesar.
3. Amplasați în camera de reacție corespunzătoare: 50μl suspensie de celule roșii și 40μl din Lorne Duoclone.
4. Incubați caseta (casetele) timp de 15 minute la 37 ° C.
5. Centrifugați caseta (e) într-o Centrifugă Ortho BioVue System.
6. Cititi rezultatul aglutinării macroscopice.

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 D de pe celulele rosii de testare.
2. Negative: lipsa aglutinarii celulelor rosii de testare constituie rezultatul negativ si in limitele acceptate a procedurii de testare, indicind absenta antigenului D corespunzator de pe celulele rosii de testare.
3. Rezultatele testului de celule care sunt aglutinate folosind controlul negativ sunt excluse, deoarece aglutinarea este cel mai probabil cauzată de efect a potențatorilor macromoleculari din reactiv pe celule sensibilizate.

STABILITATEA REACTIILOR

1. Citirea imediata a rezultatelor dupa centrifugare.
2. Etape complete de spălare fără întrerupere și teste de centrifugare și citire imediat după adăugarea globulei anti-umane, deoarece pot rezulta întârzieri în disocierea complexilor antigen-anticorp, conducând la reacții fals negative sau pozitive slabe.
3. Testele Slide trebuie interpretate în 1 minută pentru a asigura specificitatea și pentru a evita posibilitatea unui rezultat negativ poate fi interpretat în mod eronat ca fiind pozitiv datorită uscării reactivului.
4. Precauția trebuie luată în interpretarea rezultatelor testului realizat la temperaturile altele decât cele recomandate.

LIMITARILE

1. Lorne Anti-D nu este potrivit pentru utilizare cu celule sau celule tratate cu enzime suspendat în LISS.
2. Utilizarea soluțiilor pentru prepararea suspensiilor de celule roșii, altele decât cele descrise în secțiunile "Tehnici recomandate" din document trebuie să fie validată înainte de utilizare. Unele soluții pot da naștere la reacții fals



pozitive sau fals negative.

3. Single stocat poate da reactii mai slabe decit single proaspat.

4. Aglutinarea falsă pozitivă poate fi observată la testarea celulelor sensibile la IgG.

5. Rezultatele fals pozitive 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 Monoclonal Anti-D Duoclon este testat prin Tehnicile Recomandate contra panelului de cellule rosii antigen pozitive pentru asigurarea reactivitatii corespunzatoare.

3. Specificitatea sursei a anticorpilor monoclonali este demonstrata cu ajutorul unui panou de celule antigen negative.

4. Eficacitatea reactivului a fost testata contra urmatorului minim potential de referinta obtinut de la Institutul National de Biologie Standarde si controale (NIBSC): Referinta anti-D 99/836.

5. Controlul calitatii reactivului a fost efectuat utilizand celule rosii care au fost spalate de doua ori cu PBS sau cu solutie salina izotonica inainte de utilizare.

6. Reactivul este in 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 metoda, decât cele menționate în Tehnicile Recomandate.

2. Orice abatere de la Tehnicile Recomandate ar trebui să fie validate înainte de utilizare.

BIBLIOGRAFIE

1. Issitt PD. Applied Blood Group Serology. Ediția a 3-a, Montgomery Scientific, Miami, 1985, capitolul 10.

2. Mollison PL. Transfuzia de sânge în medicina clinică, ediția a VIII-a, Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1987, capitolul 7.

3. Jones J, Scott ML, Voak D. Specificitatea anti-D monoclonal și Rh D structură: criterii pentru selectarea reactivilor anti-D monoclonali pentru rutină tipărire pacienților și a donatorilor. Transfusion Medicine 1995, 5, 171-184

4. Orientări pentru serviciul de transfuzie a sângelui în Regatul Unit. H.M.S.O. Ediția curentă.

5. Comitetul britanic pentru standarde în hematologie, sarcina de transfuzie a sângelui. Forta. Recomandări pentru evaluarea, validarea și implementarea noi tehnici de grupare a sângelui, screening de anticorpi și potrivire încrucișată. Transfusion Medicine, 1995, 5, 145-150.

DIMENSIUNI DISPONIBILE REACTIVI

Dimensiune flacon	Numar Catalog
10ml	740010
1000ml	740000*
5000 ml	740000X5a*

* 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		In-vitro Diagnostic
	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 %	Afro-Americans %
+	0	K+k-	0.2	Rare
+	+	K+k+	8.8	2.0
0	+	K-k+	91.0	98.0
0	0	K _o	Exceedingly Rare	

PRINCIPLE

Reagent will cause direct agglutination (clumping) of cells that carry K antigen. No agglutination generally indicates absence of K 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 (0.9 g%), bovine albumin (6 g%) and macromolecular potentiators. 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

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. 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 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 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.
3. 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.
4. In the **Recommended Techniques** one volume is approximately 50µl when using the vial dropper provided.
5. 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.

6. The user must determine suitability of reagent for use in other techniques.

REAGENTS AND MATERIALS REQUIRED

- Applicator sticks.
- Automatic plate reader.
- PBS solution (pH 6.8-7.2) or Isotonic saline solution (pH 6.5-7.5).
- Bio-Rad ID-Cards (NaCl, Enzyme tests and Cold Agglutinins).
- Bio-Rad ID-Centrifuge.
- Bio-Rad ID-CellStab or ID-Diluent 2.
- Glass microscope slides.
- 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.
- Positive (ideally Kk) and negative (kk) control red cells.
- Test tube centrifuge.
- Validated "U" well microplates.
- 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 of Lorne 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, should be incubated for 15 minutes at room temperature.
6. Following incubation, repeat steps 3 and 4.

B. Bio-Rad ID Micro Typing Technique (Neutral 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 a NaCl, Enzyme tests and Cold Agglutinins ID-Card(s) as needed.
3. Place in appropriate microtube: 50µl of red cell suspension and 25µl of Lorne reagent.
4. Centrifuge ID-Card(s) in a Bio-Rad ID centrifuge.
5. Read macroscopically for agglutination.

C. Ortho BioVue Typing Technique

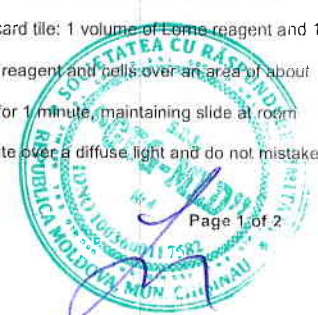
1. Prepare a 0.8% suspension of red cells in 0.8% Ortho Red Cell Diluent.
2. Remove aluminium foil from as many reaction chambers on Neutral cassette(s) as needed.
3. Place in appropriate reaction chamber: 50µl of red cell suspension and 40µl of Lorne reagent.
4. Centrifuge cassette(s) in an Ortho BioVue 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 Lorne reagent and 1 volume 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. 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.



- 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 K 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 K 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

- Stored blood may give weaker reactions than fresh blood
- 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

- The reagent has been characterised by all the procedures mentioned in the **Recommended Techniques**.
- Prior to release, each lot of Lorne Monoclonal Anti-K is tested by the **Recommended Techniques** against a panel of antigen-positive red cells to ensure suitable reactivity.
- Specificity of source monoclonal antibodies is demonstrated using a panel of antigen-negative cells.
- The Quality Control of the reagent was performed using red cells that had been washed twice with PBS or Isotonic saline prior to use.
- The reagent complies with the recommendations contained in the latest issue of the Guidelines for the UK Blood Transfusion Services.

DISCLAIMER

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

BIBLIOGRAPHY

- Kholer G, Milstein C. Continuous culture of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975, **256**, 495-497.
- Race RR, Sanger R. *Blood Groups in Man* 6th Edition, Oxford, Blackwell Scientific Publishers 1975, Chapter 2.
- Issitt PD. *Applied Blood Group Serology*, 3rd Edition, Montgomery Scientific, Miami, 1985, Chapter 10.
- Mollison PL. *Blood Transfusion in Clinical Medicine*, 8th Edition, Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1987, Chapter 7.
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom*, H.M.S.O. Current Edition.
- 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
10 ml	760010
1000 ml	760000*

*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, Reading,
 Berkshire, RG6 4UT
 United Kingdom
 Tel: +44 (0) 118 921 2264
 Fax: +44 (0) 118 986 4518
 E-mail: info@lomelabs.com

TABLE OF SYMBOLS

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





LORNE LABORATORIES LTD.
GREAT BRITAIN



REACTIVI MONOCLONALI SANGVIVI INSTRUCTII DE UTILIZARE

#referinta a documentului CEPI760

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 nastere si poate fi puternic imunogenic. Anti-K a fost implicat în Reacțiile Hemolitice de Transfuzie si la bolile hemolitice a nou-născutilor.

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 anticorpul monoclonal IgM, Clone MS-56, diluat într-un tampon fosfat care conține clorură de sodiu (0,9 g%), albumină bovină (6 g%) și potentiatori macromoleculari. Reagentul este furnizat in diluție optimala pentru utilizare cu toate tehnicile recomandate, mentionate mai jos, fără necesitatea de diluții ulterioare sau adaosuri. Pentru identificarea numarului Lotului si a termenului de expirare a se vedea **Eticheta Flaconului**.

CONDITII DE PASTRARE

Flacoanele cu reagent trebuie sa fie pastrate la 2-8°C la primire. Pastrarea indelungata la o alta temperatura decit cea mentionata poate duce la pierderea rapida a reactivitatii reagentului. Acest reagent a fost testat la conditii de transportare +37°C si -25°C, precum este mentionat in documentul EN13640:2002.

COLECTAREA SI TRANSPORTAREA PROBELOR

Probele de sange colectate cu sau fara anticoagulant pot fi utilizate pentru tiparirea antigenului. Daca testarea se face mai tirziu, atunci pobele se stocheaza la 2-8°C. Probele cu EDTA si citrate trebuie sa fie testate in timp de 7 zile dupa colectare. Probele colectate ACD, CPD, CPDA-1 poate fi testat timp de pina la 35 zile din data colectarii. Toate probele de sange trebuie sa fie spalate cel puțin de doua ori cu PBS sau solutie izotonica salina inainte de testare.

PRECAUTII

1. Reagentul este destinat doar pentru diagnosticul *in vitro*.
2. Daca flaconul cu reagent este stricat, ne ermetic inchis, acesta trebuie sa fie aruncat imediat.
3. Nu utilizati reagentii cu termen expirat (a se vedea pe **Eticheta flaconului**).
4. Nu utilizati reagentul daca este prezent precipitatul.
5. Purtati haine de protectie in timpul utilizarii reagentului, precum manusi si halat.
6. Reagentul a fost filtrate prin filter de 0,2μ, pentru a inlatura pericolul biologic. Astfel, odata ce flaconul a fost deschis, continutul poate fi utilizat pina la sfirsitul termenului de expirare, daca nu este prezenta careva turbiditate in flacon, care poate indica asupra prezentei deteriorarii sau contaminarii.
7. Reagentul contine <0,1% de azida de sodium. Acesta poate fi toxic la ingerare si poate reactiona cu cupru si staniu plumbuit si forma azide de metale cu effect exploziv. La expunere, spalati abundent cu apa.
8. Materialele utilizate pentru producerea reagentilor au fost testate pentru a fi negative la anticorpii HIV 1+2, HCV si HBsAg prin metodici microbiologice aprobate.
9. Nici o metoda de testare cunoscuta nu poate garanta lipsa agentilor infectiosi in produsele derivate din material de origine umana sau biologica. Atentie se ia utilizare si distrugerea fiecarui flacon si a continutului acestuia.

PROCEDURI DE DISTRUGERE A REAGENTULUI SI DE PROTECTIE IN CAZUL SCURGERII

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

CONTROALE SI SFATURI



1. Se recomandă utilizarea în paralel a controalelor pozitive (ideal celulele heterozigote) și cele negative la efectuarea testării fiecărui set de probe. Testele trebuie considerate invalide în cazul în care controalele nu afișează rezultatele așteptate.
2. La tastarea celule roșii de la un pacient, este important ca un control negativ a reactivului (Mono Rh control, Lorne număr de catalog 640010) să fie inclus, deoarece potențiatori macromoleculare în reactiv poate provoca reacții 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 să fie testate prin folosirea tehnicii de testare în tub.
4. În **Tehnicile Recomandate** un volum se considera de cca 50μl la utilizarea flaconului cu pipeta oferit.
5. Utilizarea reagenților și interpretarea rezultatelor trebuie să fie efectuată de personal antrenat și calificat în concordanță cu cerințele țării unde acești reagent se folosesc.
6. Utilizatorul trebuie să determine utilitatea reagentului în alte tehnici decât cele menționate.

REAGENȚI ȘI MATERIALE NECESARE

1. Stick-uri.
2. Cititor de placă 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 sticlă pentru microscop.
8. Tuburi de testare din sticlă (10 x 75 mm or 12 x 75 mm).
9. Centrifuga microplacă.
10. Casete BioVue System (Neutre)
11. Centrifuga BioVue System.
12. Diluents pentru celule roșii Ortho 8%.
13. Shaker.
14. Control de celule roșii pozitiv (ideal Kk) și negative (kk)
15. Tub de testare centrifuga.
16. Godeuri "U" validate.
17. Pipete volumetrice.

TEHNICI RECOMANDATE

A. TEHNICA ÎN TUB

1. Preparati o suspensie de celule roșii spălate 2-3% în PBS sau soluție izotonica salina.
2. Adăugați în tubul marcat pentru testare: 1 volum de reagent Lorne Anti-A₁ și 1 volum de suspensie de celule roșii de testare.
3. Amestecați minucios și centrifugați toate tuburile timp de 20 secunde la 1000 rcf sau utilizați alți parametrici corespunzători de timp și viteză de centrifugare.
4. Resuspendați atent conglomeratul de celule roșii și citiți aglutinarea microscopică.
5. Orice tub care prezintă 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 roșii spălate în ID-CellStab.
2. Înlăturați folia de aluminiu de pe tuburi.
3. Plasati în tuburile corespunzătoare: 50μl de soluție suspensie celule roșii de testare și 25μl de reagent Lorne.
4. Centrifugați ID-Card(s) în Centrifuga Diamed ID.
5. Citiți rezultatul aglutinării macroscopice.

C. TEHNICA DE TIPARE Ortho Bio Vue

1. Prepararea suspensiei de 0,8% a celulelor roșii spălate în 0,8% Ortho Red Cell Diluent.
2. Înlăturați folia de aluminiu de pe cel puțin una din camerele de reactive, după cum este necesar.
3. Plasati în camera de reactive corespunzătoare: 50μl de soluție suspensie celule roșii și 40μl de reagent Lorne.
4. Centrifugați casetele timp de 5 minute în centrifuga Ortho BioVue System.
5. Citiți rezultatul aglutinării macroscopice.

D. TEHNICA Microplacă, utilizând godeuri "U"

1. Preparati o suspensie de celule roșii spălate 2-3% în PBS sau soluție izotonica salina.



2. Aduagati in godeurile corespunzatoare: 1 volum de reagent Lornesi 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. Aduagati 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 suprafată 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 ilimitele 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 positive 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</i> Diagnostic
	Catalogue Reference		Store At
	Expiry Date		Manufacturer
	Read Pack Insert		



BLENDEN ANTI-HUMAN GLOBULIN (RABBIT) POLYSPECIFIC ANTI-IgG AND ANTI-C3d



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.

PRINCIPLE

When used by the recommended techniques, the reagents will react with immunoglobulins and/or complement attached to the red cell surface, resulting in agglutination (clumping) of adjacent sensitised cells. Cells not sensitised will not be agglutinated (See Limitations).

REAGENT

Lorne AHG Elite Clear and AHG Elite Green reagents contain anti-IgG derived from rabbits with non-specific activity removed by absorption and mouse monoclonal IgM anti-C3d, Clone BRIC-8. The antibodies are diluted in a buffered solution containing bovine albumin. 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	Colour	Dye Used
AHG Elite Clear	Colourless	None
AHG Elite Green	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 EN13640:2002.

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. All blood samples should be washed at least twice 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. 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 reagents and decontamination of a spillage site see Material/Safety Data Sheets, available on request.

CONTROLS AND ADVICE

1. It is recommended a positive control (weak Anti-D 0.1 IU/ml) and a negative control (an inert serum) be test in parallel with each batch of tests. Tests must be considered invalid if controls do not show expected results.
2. The antiglobulin techniques can only be considered valid if all negative tests react positively with IgG sensitised red cells.
3. In the Recommended Techniques one volume is approximately 50µl when using the vial dropper provided.
4. 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)

1. Wash 1 volume of test 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.
2. Add 2 volumes of Lorne AHG Elite to each dry cell button.
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.

B. Indirect Antiglobulin Technique (NISS IAT)

1. Prepare a 2-3% suspension of washed test red cells in PBS or Isotonic saline.
2. Place in a labelled test tube: 2 volumes of test serum and 1 volume of test red cell suspension.
3. Mix thoroughly and incubate at 37°C for 15 minutes.
4. Wash test 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.
5. Add 2 volumes of Lorne AHG Elite to each dry cell button.
6. Mix thoroughly and centrifuge all tubes for 20 seconds at 1000 rcf or for a suitable alternative time and force.
7. Gently resuspend red cell button and read macroscopically for agglutination.

C. LISS Indirect Antiglobulin Technique (LISS IAT)

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

INTERPRETATION OF TEST RESULTS

1. 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 (C3) 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 IgG and/or complement (C3) on the test 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 Techniques.
2. A positive DAT due to complement sensitisation may not reflect *in vivo* complement fixation if test cells are from a refrigerated clotted specimen.
3. Inadequate washing of red cells in the indirect antiglobulin techniques may neutralise the anti-human globulin reagent.
4. Following completion of the wash phase excess residual saline may dilute the anti-human globulin, reducing its potency.
5. 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.
6. 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. The reagents have been characterised by the procedures mentioned in the Recommended Techniques.
2. Prior to release, each lot of Lorne AHG Elite Clear and AHG Elite Green is tested by the Recommended Techniques against red cells coated with Anti-D, Anti-K and Anti-Fya to check suitable reactivity.
3. The anti-IgG and anti-C3d potencies have been tested against the following minimum potency reference standard obtained from National Institute of Biological Standards and Controls (NIBSC): Anti-AHG reference standard 96/666
4. Anti-C3d potency is demonstrated in tests employing cells coated with C3.
5. 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.
6. The reactivity of any Anti-IgM, Anti-IgA or Anti-light chain components that might be present has not been established.
7. The Quality Control of the reagents was performed using red cells that had been washed with PBS or Isotonic saline prior to use.
8. The reagents comply with the recommendations contained in the latest issue of the Guidelines for the UK Blood Transfusion Services.

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






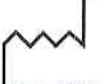

1. Coombs RRA, Mourant AE, Race RR. A new test for the detection of weak and "incomplete" Rh antibodies. *Brit J Exp Pathol.* 1945; 26:255.
2. Wright MS, Issitt PD. Anti-complement and the indirect antiglobulin test. *Transfusion* 1979; 19:688-694.
3. Howard JE, Winn LC, Gottlieb CE, Grumet FC, Garratty G, Petz LD. Clinical significance of the anti-complement components of anti-globulin antisera. *Transfusion* 1982; 22:269.
4. Howell P, Giles CM. A detailed serological study of five anti-Jka sera reacting by the antiglobulin technique. *Vox. Sang.* 1983; 45: 129-138.
5. Issitt PD, Smith TR. Evaluation of antiglobulin reagents. A seminar on performance evaluation. Washington, DC. American Association of Blood Banks. 1976; 25-73.
6. The Department of Health and Social Security. Health Services Management Antiglobulin Test. False negative results, HN (Hazard) (83) 625 Nov 1983.
7. Bruce M, Watt AH, Hare W, Blue A, Mitchell R. A serious source of error in antiglobulin testing. *Transfusion* 1986; 26: 177-181.
8. The anti-complement reactivity low ionic methods as published by FDA. Recommended Methods for Anti-Human Globulin Evaluation (revision October 1984).
9. Dynan PK. Evaluation of commercially available low ionic strength salt (LISS) solutions. *Med Lab Sci* (1981) 381: 13-20.
10. 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.
11. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. H.M.S.O. Current Edition.
12. 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
Lorne AHG Elite (Clear)	10 ml	415010
	1000 ml	415000*
Lorne AHG Elite (Green)	10 ml	435010
	1000 ml	435000*

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

TABLE OF SYMBOLS

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



Lorne Laboratories Limited

Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate, Danehill, Lower Earley, Berkshire RG6 4BT 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



0843

REAGENT GLOBULINĂ ANTI-UMANĂ POLISPECIFICĂ (iepure) ANTI-IgG și ANTI-C3d

referință a documentului CEPI415/435

APLICAȚIILE. AHG Elite (Clear sau Green): pentru tehnica antiglobulinică

SUMAR: În 1945 Coombs, Mourant și Race au descris utilizarea serului globulinic anti-uman pentru detectarea anticorpilor neaglutinanți legate de celule. În 1957, Dacie au arătat că anticorpii prezenți în serul antiglobulinic au fost îndreptate împotriva anumitor componente ale complementului. Reactivii globulinici anti-umani detectează moleculele anticorpilor non-aglutinare, precum și molecule de complement atașate la celule roșii urmând reacțiile antigen-anticorp in vivo sau in vitro.

PRINCIPII: Fiind utilizați de tehnica recomandată, reactivul va interacționa cu imunoglobulinele și/sau complementul atașat de suprafața celulelor roșii cauzând aglutinarea (agregarea) celulelor adiacente sensibilizate. Celulele nesensibilizate nu vor fi aglutinate. (a se vedea Limitările).

REAGENȚII: Reactivii LORNE AHG Elite Clear și AHG Elite Green conțin anti-IgG derivate din iepure cu activitatea non-specifică înlăturată prin absorbție și IgM anti-C3d monoclonal, Clona BRIC-8. Anticorpii sunt diluați în soluție bufer care conține albumină bovină. Reactivii sunt 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.

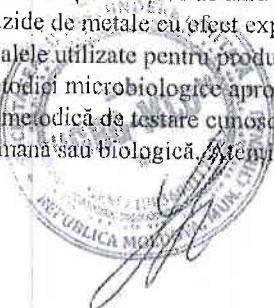
Reactiv	Culoarea	Colorantul utilizat
AHG Elite Clear	Fără de culoare	-
AHG Elite Green	Verde	Albastru și tartrazina patentată

CONDIȚII DE PĂSTRARE: Flacoanele cu reactivi 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 reactivului. Acest reactiv a fost testat la condiții de transportare +37°C și -25°C, precum este menționat în documentul EN13640:2002.

COLECTAREA ȘI PREPARAREA PROBELOR: Probele de sânge sunt colectate aseptice în EDTA și sunt testate cât de curând posibil. Dacă EDTA nu este disponibil, probele se colectează în ACD, CPD, CPDA-1 și sunt mai preferabile decât sângele coagulat. Dacă doar probele coagulate sunt colectate, nu le înghețați înaintea testării. Toate probele de sânge trebuie să fie spălate cel puțin de 2 ori cu PBS sau soluție izotonică salină înainte de testare.

PRECAUȚII:

1. Reactivii sunt destinați doar pentru diagnosticul in vitro.
2. Dacă flaconul cu reactiv este stricat, nu este sigilat ermetic, acesta trebuie să fie distrus imediat în corespundere cu legislația în vigoare.
3. Nu utilizați reactivii cu termenul expirat (a se vedea pe Eticheta Flaconului).
4. Nu utilizați reactivii dacă este prezent precipitatul.
5. Purtați haine de protecție în timpul utilizării reactivilor, precum mănuși și halat.
6. Reactivii 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. Reactivul 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 reactivilor au fost testate pentru a fi negativi la anticorpii HIV 1+2, HCV și HBsAg prin metode 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 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 (anti D slab 0,1 IU/ml) și cel negativ (un ser inert) la efectuarea testării fiecărui set de probe. Testul trebuie considerat nevalid dacă controalele nu au prezentat rezultatele așteptate.
2. Tehnica antiglobulinică poate fi considerată validă dacă toate probele negativă reacționează pozitiv cu celulele roșii sensibilizate cu IgG.
3. La tehnica în tub, un volum se consideră de cca 50 μl la utilizarea flaconului cu pipetă oferit.
4. Utilizarea reactivelor și interpretarea rezultatelor trebuie să fie efectuată de personal antrenat și calificat în concordanță cu cerințele țării unde acești reactivi se folosesc. Utilizatorul trebuie să determine utilitatea reactivului în alte tehnici decât cele menționate.

REAGENȚI ȘI MATERIALE NECESARE:

- Spălător de celule Coombs
- Tuburi de testare din sticlă (10 x 75 mm or 12 x 75 mm).
- Celule roșii sensibilizate cu IgG, de ex., Lorne Coombs Control Cells (Cat # 970010)
- Anticorpi inerti, de ex., Lorne Inert AB Serum (Cat #110010)
- Soluția LISS, ce conține 0,03M NaCl, soluție tampon 0,003M Na₂HPO₄:NaH₂PO₄ pH 6,7 la 22°C±1°C și 0,24M glicină.
- Soluția PBS (pH 6,8-7,2) sau soluția salină izotonică (pH 6,5-7,5)
- Pipete volumetrice.
- Baia de apă sau incubator cu încălzire uscată echilibrat la 37°C ± 2°C.
- Soluție anti-D slabă, de ex., Lorne Precise Weak Anti-D (Cat # 209005).

TEHNICILE RECOMANDATE:

A. Tehnica Antiglobulinică Directă (DAT)

1. Spălați celulele roșii pentru testare de 4 ori cu PBS sau soluția izotonică salină, decantând soluția salină de fiecare dată între spălări și resuspendând fiecare conglomerat de celule după fiecare spălare. Decantați soluția salină după ultima spălare.
2. Adăugați 2 volume de Lorne AHG Elite la fiecare conglomerat de celule uscat.
3. Amestecați riguros și centrifugați toate tuburile pentru 20 sec la 1000 ref sau sau utilizați alți parametri corespunzători de timp și viteză de centrifugare.
4. Resuspendați atent conglomeratul de celule roșii și citiți aglutinarea microscopic.

B. Tehnica Antiglobulinică Indirectă (NISS IAT)

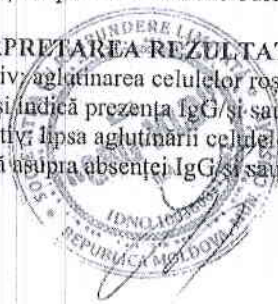
1. Preparați o suspensie de celule roșii spălate 2-3% în PBS sau soluție izotonică salină
2. Adăugați în tubul marcat pentru testare: 2 volume de ser de testare și 1 volum de suspensie de celule roșii de testare.
3. Amestecați minuțios și incubati la 37°C pentru 15 min.
4. Spălați celulele roșii de testare de 4 ori cum PBS sau soluție izotonică salină, atent decantând lichidul după fiecare spălare și resuspendând aglomeratul de celule la fiecare spălare. Decantați complet soluția salină la ultima spălare.
5. Adăugați 2 volume de Lorne AHG Elite la fiecare conglomerat de celule roșii uscat.
6. Amestecați minuțios și centrifugați toate tuburile timp de 20 sec la 1000 RCF sau utilizați alți parametri corespunzători de timp și viteză de centrifugare.
7. Resuspendați atent conglomeratul de celule-roșii și citiți aglutinarea microscopic.

C. Tehnica antiglobulinică indirectă LISS (LISS IAT):

1. Preparați suspensia de 1,5-2% a celulelor roșii spălate în LISS.
2. Plasați în tuburile de testare marcate: 2 volume de ser de testare și 2 volume de suspensie de celule roșii de testare.
3. Amestecați minuțios și incubati la 37°C pentru 15 min.
4. Urmați etapele 4 - 7 din metoda NISS IAT de mai sus.

INTERPRETAREA REZULTATELOR TESTULUI:

1. Pozitiv: aglutinarea celulelor roșii testate constituie rezultatul pozitiv al testării în limitele acceptate a procedurii de testare și indică prezența IgG și sau complementului (C3) 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 IgG și sau complementului (C3) pe celulele roșii de testare.



STABILITATEA REACȚILOR:

1. Etapele de spălare trebuie să fi e completate fără întreruperea la centrifugare și citirea imediată după adăugarea reactivului. Latența poate rezulta în disocierea complexului antigen-anticorp, cauzând rezultate fals negative sau pozitive slabe.
2. Trebuie luate măsuri de precauție la interpretarea rezultatelor testului realizat la temperaturile altele decât cele recomandare.

LIMITĂRILE:

1. Celulele roșii care au DAT (Tehnică Antiglobulinică Directă) pozitiv datorită învelirii IgG nu poate fi tipizat prin tehnica antiglobulinică indirectă.
2. Rezultatul pozitiv DAT (Tehnică Antiglobulinică Directă) datorită sensibilității complementare nu poate reflecta fixarea complementară in vitro, dacă celulele testate provin dintr-o probă coagulată înghețată.
3. Spălarea incorectă a celulelor roșii în tehnica antiglobulinică indirectă poate rezulta în neutralizarea reagentului globulinic anti-uman.
4. După terminarea spălării, faza salină reziduală în exces poate dilua globulina anti-umană, reducând eficacitatea sa
5. Rezultatul negativ al testului antiglobulinic direct nu neapărat contravine diagnosticul clinic al Bolii Hemolitice a Nou-Născuților sau Anemia Hemolitică AutoImmună ABO. Totodată, aceasta nu neapărat exclude BHNN, în special dacă este suspectată incompatibilitatea ABO.
5. Rezultatele fals pozitive și fals negative pot apărea datorită:
 - contaminării materialului de testare
 - păstrării incorecte, concentrației celulare, timpului de incubare sau temperaturii de incubare.
 - centrifugării incorecte sau excesive.
 - abateri de la tehnica de lucru recomandată.

CARACTERISTICILE PERFORMANȚELOR SPECIFICE:

1. Reactivii au fost caracterizați prin procedurile menționate în Tehnici Recomandate.
2. Înaintea eliberării, fiecare lot a reactivului Lorne AHG Elite Clear și AHG Elite Green este testat prin Tehnicile Recomandate contra celulelor roșii acoperite cu Anti-D, Anti-K și Anti-Fya pentru asigurarea reactivității corespunzătoare.
3. Activitatea anti-IgG și anti-C3d a fost testată contra standardului de referință al activității minimale obținut de la Institutul Național a Controalelor și Standardelor Biologice (National Institute of Biological Standards and Controls, NIBSC): standardul de referință Anti-AHG #96/666
4. Reactivitatea Anti-C3d este demonstrat în testele care utilizează celule acoperite cu C3.
5. Prezența de contaminare cu aglutinine heterospecifice sau anticorpi la C4d a fost exclus în testele care utilizează celule roșii din toate grupurile ABO și celule acoperite cu C4d.
6. Reactivitatea oricărui anti-IgM, anti-IgA sau componente anti-light în lanț care ar putea fi prezente nu a fost stabilită.
7. Controlul calității a reactivilor a fost realizat prin utilizarea celulelor roșii care au fost spălate dublu cu PBS sau soluție salină izotonică înainte de utilizare
8. Reactivii corespund cu recomandările incluse în ultima ediție a Ghidului pentru Serviciile de Transfuzie a Sângelui din Marea Britanie.

DECLINARE A RESPONSABILITĂȚII (DISCLAIMER):

1. Utilizatorul este responsabil de performanța reactivilor fiind utilizate prin alte metode decât cele menționate în Tehnicile Recomandate.
2. Orice deviere de la Tehnicile Recomandate trebuie să fie validată înainte de utilizare¹².

BIBLIOGRAFIE:

1. Coombs RRA, Mourant AE, Race RR. A new test for the detection of weak and "incomplete" Rh antibodies. Brit J Exp Pathol. 1945; 26:255.
2. Wright MS, Issitt PD. Anti-complement and the indirect antiglobulin test. Transfusion 1979; 19:688-694.
3. Howard JE, Winn DC, Gottlieb CE, Grumet FC, Garratty G, Petz LD. Clinical significance of the anti-complement components of anti-globulin antisera. Transfusion 1982; 22:269.
4. Howell P, Giles CM. A detailed serological study of fi ve anti-Jka sera reacting by the antiglobulin technique. Vox. Sang. 1983; 45: 129-138.
5. Issitt PD, Smith TR. Evaluation of antiglobulin reagents. A seminar on performance evaluation. Washington, DC: American Association of Blood Banks. 1976; 25-73.
6. The Department of Health and Social Security. Health Services Management Antiglobulin Test. False negative results. HN (Hazard) (83) 625 Nov 1983.
7. Bruce M, Watt AH, Hart W, Blue A, Mitchell R. A serious source of error in antiglobulin testing. Transfusion 1986; 26:



177-181.

8. The anti-complement reactivity low ionic methods as published by FDA. Recommended Methods for Anti-Human Globulin Evaluation (revision October 1984).

9. Dynan PK. Evaluation of commercially available low ionic strength salt (LISS) solutions. Med Lab Sci (1981) 381: 13-20.

10. 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.

11. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. H.M.S.O. Current Edition.








12. 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:

Denumire	Volumul flaconului	Numărul de catalog
Lorne AHG Elite (Clear)	10 ml	415010
	1000 ml	415000*
Lorne AHG Elite (Green)	10 ml	435010
	1000 ml	435000*

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

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

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



Instructions for use – IgG Coated Cells



0843

IVD


Blood and Transplant

Reagent red cells
for use in the control of the anti-human globulin technique
for *in vitro* diagnostic use only

Product Code: PR092
Reagents, NHSBT Liverpool,
14 Estuary Banks, Liverpool L24 8RB
Tel 0151 268 7157

Intended use

These reagent red blood cells are intended to be used for the control of negative anti-human globulin (AHG) tests and can also be used to monitor the washing efficiency of cell washing centrifuges.

Principles of the examination method

Plasma/serum samples are incubated with reagent red cells to determine the presence of agglutinins by direct and/or indirect methods

Components

These cells are supplied as a 4.0±0.2% suspension to be used directly from the vial.

These reagent red cells, prepared from non-remunerated blood donors, are leucodepleted, washed and suspended in a preservative solution – Modified Alsevers solution, which has been specially formulated to preserve red cell integrity and antigenicity, containing trisodium citrate 8g/L, D-glucose 20/0g/L, citric acid monohydrate 0.5g/L, sodium chloride 4.2g/L, inosine 0.938g/L, ATP 0.4g/L, chloramphenicol 0.34g/L and neomycin sulphate 0.1g/L.

Reagent Preparation

Mix before use

Storage and shelf life after first opening

Store at 2°- 8°C

Do not freeze

Do not use beyond the notified expiry date

Warnings and precautions

For professional use only

The recommended conditions of storage and use must be rigidly applied.

Do not use if red cells appear obviously discoloured or haemolysed.

The donations used in this product have been tested at source and found negative for the mandatory microbiological tests required by the Guidelines for UK BTS at the time of donation. No known test methods can offer assurances that products derived from human blood will not transmit infectious diseases. Appropriate care should be taken in the use and disposal of this product. Chloramphenicol is classed as a carcinogen, neomycin sulphate as an irritant.

Control of negative antiglobulin tests

Examination procedure

It is important to ensure that the anti-human globulin test worked correctly as a negative result could incorrectly be assigned where in fact the test mechanism failed

1. Add 1 drop of IgG coated cells to **each negative** antiglobulin test
2. Centrifuge at 1000rpm for 1 minute or for an equivalent speed and time
3. Read tests macroscopically

Interpretation of results

The IgG coated cells should give a macroscopic reaction with negative antiglobulin tests, when used as recommended

A macroscopic reaction (grade 2-3) indicates the anti human globulin has not been neutralised

All tests with IgG coated cells giving a negative or equivocal result must be considered invalid and the AHG test repeated.

Monitoring efficiency of cell-washing centrifuges

Examination procedure

It is important to ensure that the anti human globulin test is working correctly as a negative result could incorrectly be assigned where in fact the washing procedure has failed

- 1 Use one tube for each place in the centrifuge head and add to each 1 volume of the IgG coated cells plus 2 volumes of AB serum
- 2 Run the centrifuge through its normal cycle of 3 or 4 washes
- 3 Add 2 volumes of AHG reagent (or as recommended in the package insert) mix and centrifuge as per machine instructions
- 4 Read and record results

Interpretation of results

All tubes should show equal strength 2+ reactions or greater. Failure to do so indicates that the centrifuge is not washing correctly and should be taken out of service until the problem is corrected.

Performance characteristics

In both procedures an unequivocal 2-3 grade viewed macroscopically should be regarded as proof that test mechanism was working or that the centrifuge washing cycle was adequate for AHG test to work effectively.

Limitations of the examination procedure

If tests set up to control the batch of tests fail to give required results then all tests must be repeated.

Literature references

These reagents comply with:

The requirements of Directive 98/79/EC on *in vitro* diagnostic medical devices

Guidelines for the Blood Transfusion Services in the UK (current version)





IVD

**Blood and Transplant****INSTRUCTII DE UTILIZARE – IgG Celule Acoperite**

Reactivi de Celule Rosii destinat pentru diagnosticul *in vitro* a controlului tehnicii globuline anti-uman.

Cod Produs: PR092

**Reagents, NHSBT Liverpool,
14 Estuary Bank, Liverpool L24 8RB
Tel 01512687157**

PRINCIPII DE UTILIZARE

Acesti reagenti sunt destinati pentru controlul tetelor negative a globulinelor anti-human (AHG), precum si pentru monitorizarea eficientei spalarii celulelor centrifugate.

PRINCIPIILE METODEI DE EXAMINARE

Probele de plasma/ser sunt incubate cu reagent ai celulelor rosii pentru a determina prezenta aglutinelor prin metode directe si/sau indirecte.

COMPONENTE

Aceste celule sunt livrate sub formă de suspensie $4,0 \pm 0,2\%$, pentru a fi utilizat direct din flacon.

Aceste celule roșii de reacție, preparate de la donatori neremunerate de sânge, sunt leucodepletate, spălate și suspendate într-o soluție de conservant – soluție Modified Alsevers, care au fost special formulate pentru a păstra integritatea celulelor roșii și antigenității, conținând citrat trisodic 8g / L, D- glucoză 20 / 0g / L, acid citric monohidrat 0,5 g / l, clorură de sodiu 4,2 g / l, 0.938g inozină / L, ATP 0,4 g / l, 0,34g cloramfenicol / l și 0,1 g sulfat de neomicină / l.

PREPARAREA REAGENTILOR

Amestecati minutios inainte de utilizare.

CONDITII DE PASTRARE SI TERMENUL DE VALABILITATE DUPA PRIMA DESCHIDERE

Flacoanele cu reagent trebuie sa fie pastrate la 2-8°C.

A nu se congela.

A nu se utiliza dupa data de expirare indicate pe ambalaj.

AVERTIZARI SI MASURI DE PRECAUTIE

Doar pentru uz profesional.

Condițiile de pastrare și utilizare trebuie urmate cu strictete.

A nu se utiliza în cazul în care celulele roșii prezintă modificări de culoare sau hemolizate.

Donatiile utilizate în acest produs au fost testate la sursă și au fost găsite negative pentru testele microbiologice obligatorii cerute de liniile directe pentru Marea Britanie BTS la momentul donării. Nu există metode de testare

