



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

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

**REZUMAT**

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

**SCOPUL PROPUS**

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

**PRINCIPIUL**

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

**REACTIVI**

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

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

**DEPOZITARE**

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

**RECOLTAREA ȘI PREGĂTIREA PROBEI**

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

**PRECAUȚII**

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

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

**ELIMINAREA REACTIVULUI ȘI CUM SE ACȚIONEAZĂ ÎN CAZ DE STROPIRE**

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

**MARTORI ȘI RECOMANDĂRI**

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

**REACTIVI ȘI MATERIALE NECESARE**

- Spălător de celule Coombs.
- Eprubete de sticlă (10 x 75 mm sau 12 x 75 mm).
- Globule roșii sensibilizate cu IgG, de ex. Celule de control Coombs Lorne (Cat # 970010).
- Anticorp inert, de ex. Inert AB Serum Lorne (Cat # 110010).
- Soluție cu putere ionică joasă (LISS): Conține 0,03M NaCl, 0,003M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; tampon NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> pH 6,7 la 22 °C ± 1 °C și glicină 0,24M.
- Soluție PBS (pH 6,8–7,2) sau soluție salină izotonă (pH 6,5–7,5).
- Pipete volumetrice.
- Baie de apă sau incubator cu căldură uscată echilibrată la 37 °C ± 2 °C.
- Anti-D slab, de ex., Precise Weak Anti-D Lorne (Cat # 209005).

**TEHNICI RECOMANDATE**

**A. Tehnica directă cu antiglobulină (DAT)**

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

**B. Tehnica indirectă cu antiglobulină (NISS IAT)**

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

**C. Tehnica indirectă cu antiglobulină LISS (LISS IAT)**

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

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

#### INTERPRETAREA REZULTATELOR TESTULUI

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

#### STABILITATEA REACȚIILOR

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

#### LIMITĂRI

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

#### CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ SPECIFICE

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

#### DECLINAREA RESPONSABILITĂȚII

- Utilizatorul este singurul responsabil pentru performanța reactivilor în cazul utilizării altor metode decât cele menționate în **Tehnici recomandate**.
- Orice abateri de la **Tehnicile recomandate** trebuie validată înainte de utilizare<sup>9</sup>.

#### BIBLIOGRAFIE

- Voak D, Downie DM, Moore BPL, and Engelfreit CP. Anti-Human Globulin reagent specification. The European and ISBT/ICSH View. Biotest Bulletin 1: 7-22 (1986).
- The Department of Health and Social Security. Health Services Management Antiglobulin Test. False negative results, HN (Hazard) (83) 625 Nov 1983.
- Bruce M, Watt AH, Hare W, Blue A, Mitchell R. A serious source of error in antiglobulin testing. Transfusion 1986; **26**: 177-181.
- Voak D, Downie DM, Moore BPL, Ford DS, Engelfreit CP, Case J. Replicate tests for the detection and correction of errors in AHG (AHG) tests: optimum conditions and quality control. Haematologia 1988; **21**(1): 3-16.
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6<sup>th</sup> Edition 2002. The Stationary Office.
- British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force. Recommendations for evaluation, validation and implementation of new techniques for blood grouping, antibody screening and cross matching. Transfusion Medicine, 1995, **5**, 145-150.

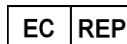
#### DIMENSIUNI REACTIV DISPONIBILE

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

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



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



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