



**ΜΙΚΤΗ AHG (ΚΟΥΝΕΛΙΟΥ) ΠΟΛΥΕΙΔΙΚΗ ANTI-IgG ΚΑΙ ANTI-C3d
ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ**

AHG Elite (Clear ή Green): Για Τεχνικές Αντισφαιρίνης.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το 1945, οι Coombs, Mourant και Race περιέγραψαν τη χρήση του ορού AHG για την ανίχνευση των δεσμευμένων σε ερυθροκύτταρα μη-συγκολλητικών αντισωμάτων. Το 1957, οι Dacie et al απέδειξαν ότι τα αντισώματα που υπάρχουν στον ορό αντισφαιρίνης κατευθύνονται έναντι συγκεκριμένων συστατικών του συμπληρώματος. Τα αντιδραστήρια AHG ανιχνεύουν τα μη-συγκολλητικά μόρια του αντισώματος καθώς επίσης και τα μόρια του συμπληρώματος που είναι προσκολλημένα στα ερυθροκύτταρα έπειτα από τις *in vivo* ή *in vitro* αντιδράσεις αντιγόνου-αντισώματος.

ΠΡΟΟΡΙΖΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Τα αντιδραστήρια αυτά είναι πολυειδικά αντιδραστήρια προσδιορισμού ομάδων αίματος που προορίζονται να χρησιμοποιηθούν για την ποιοτική ανίχνευση της παρουσίας ή απουσίας των IgG αντισωμάτων που προκαλούν ευαισθητοποίηση (και οι 4 υποκατηγορίες) και των παραγόντων συμπληρώματος C3d και C3b στα ανθρώπινα ερυθροκύτταρα όταν εξετάζονται σύμφωνα με τις συνιστώμενες τεχνικές που δηλώνονται σε αυτές τις Οδηγίες Χρήσης.

ΑΡΧΗ

Τα αντιδραστήρια περιέχουν αντισώματα έναντι των ανθρώπινων IgG αντισωμάτων και των C3 παραγόντων συμπληρώματος (C3d και C3b) στα ανθρώπινα ερυθροκύτταρα και προκαλούν άμεση συγκόλληση (συσσωμάτωση) των ερυθροκυττάρων που ευαισθητοποιούνται με τα ανθρώπινα IgG αντισώματα και/ή τους C3 παράγοντες συμπληρώματος (C3d και C3b). Σε γενικές γραμμές η έλλειψη συγκόλλησης υποδηλώνει την απουσία των IgG αντισωμάτων που προκαλούν ευαισθητοποίηση και των παραγόντων συμπληρώματος C3 (C3d και C3b στα ανθρώπινα ερυθροκύτταρα) (Βλέπε **Περιορισμοί**).

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Τα αντιδραστήρια AHG Elite Clear και AHG Elite Green της Lorne περιέχουν anti-IgG που λαμβάνεται από κουνέλια από τα οποία έχει η αφαιρεθεί η μη-ειδική δραστηριότητα μέσω προσρόφησης καθώς και μονοκλωνική IgM Anti-C3d ποικιλίας, Κλώνος BRIC-8. Τα αντισώματα διαλύονται σε ρυθμιστικό διάλυμα που περιέχει βόεια αλβουμίνη. Τα αντιδραστήρια δεν περιέχουν ή αποτελούνται από KMT ουσίες ή ουσίες που προκαλούν ενδοκρινικές διαταραχές ή που θα μπορούσαν να παρουσιάσουν ευαισθητοποίηση ή κάποια αλλεργική αντίδραση του χρήστη. Κάθε αντιδραστήριο παρέχεται στη βέλτιστη αραίωση προς χρήση σε όλες τις συνιστώμενες τεχνικές που αναφέρονται παρακάτω χωρίς να χρειάζεται περαιτέρω αραίωση ή προσθήκη. Για τον αριθμό αναφοράς της παρτίδας και την ημερομηνία λήξης βλέπε **Ετικέτα Φιαλιδίου**.

Αντιδραστήριο	Κυτταρική Σειρά/Κλώνος	Χρώμα	Χρησιμοποιηθείσα Χρωστική
AHG Elite Clear	Αντιανθρώπινη IgG Κουνελίου BRIC-8 (Anti-C3d)	Άχρωμο	Καμία
AHG Elite Green	Αντιανθρώπινη IgG Κουνελίου BRIC-8 (Anti-C3d)	Πράσινο	Patent Blue και Ταφραζίνη

ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ

Τα φιαλίδια αντιδραστηρίων μετά τη λήψη θα πρέπει να αποθηκεύονται σε θερμοκρασία 2 - 8 °C. Η παρατεταμένη αποθήκευση σε θερμοκρασίες εκτός αυτού του εύρους ενδέχεται να προκαλέσει ταχύτερη απώλεια της δραστηριότητας του αντιδραστηρίου. Το αντιδραστήριο αυτό έχει υποβληθεί σε μελέτες σταθερότητας κατά τη μεταφορά σε θερμοκρασίες 37 °C και -25 °C όπως περιγράφεται στο έγγραφο BS EN ISO 23640:2015.

ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Τα δείγματα θα πρέπει να συλλέγονται άσηπτα σε EDTA για την πρόληψη της *in vitro* δέσμευσης του συμπληρώματος και να εξετάζονται το ταχύτερο δυνατόν. Εάν δεν υπάρχει διαθέσιμο EDTA, τα δείγματα που συλλέγονται σε ACD, CPD ή CPDA-1 προτιμώνται έναντι των θρομβωμένων δειγμάτων. Εάν διατίθενται μόνο θρομβωμένα δείγματα, μην τα καταψύχετε πριν από τη δοκιμή.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΙΣ

- Τα αντιδραστήρια προορίζονται αποκλειστικά για διαγνωστική χρήση *in vitro*.
- Εάν το φιαλίδιο κάποιου αντιδραστηρίου είναι σπασμένο ή ραγισμένο, απορρίψτε το περιεχόμενο του αμέσως.
- Μη χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια μετά την ημερομηνία λήξης (βλέπε **Ετικέτα Φιαλιδίου**).
- Μη χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια σε περίπτωση παρουσίας ιζήματος.
- Κατά το χειρισμό των αντιδραστηρίων, φοράτε κατάλληλο προστατευτικό εξοπλισμό, όπως γάντια μίας χρήσης και εργαστηριακή ποδιά.

- Τα αντιδραστήρια έχουν διηθηθεί μέσω μιας κάψουλας 0,2 μm για τη μείωση της βιοεπιβάρυνσης, αλλά δεν παρέχονται αποστειρωμένα. Από τη στιγμή που θα ανοιχθεί το φιαλίδιο το περιεχόμενό του θα παραμείνει βιώσιμο έως την ημερομηνία λήξης εφόσον δεν παρατηρείται θαλέρση, η οποία ενδέχεται να υποδεικνύει αλλοίωση ή μόλυνση του αντιδραστηρίου.
- Τα αντιδραστήρια περιέχουν < 0,1% αζίδιου του νατρίου. Το αζίδιο του νατρίου ενδέχεται να είναι τοξικό κατά την πρόσληψη δια του στόματος, ενώ ενδέχεται να αντιδράσει με μολύβδινους και χάλκινους υδραυλικούς σωλήνες, δημιουργώντας εκρηκτικά μεταλλικά αζίδια. Κατά την απόρριψη, ξεπλύνετε με άφθονη ποσότητα νερού.
- Τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν για την παραγωγή των προϊόντων υπεβλήθησαν σε δοκιμή στην πηγή με τη χρήση εγκεκριμένων μικροβιολογικών δοκιμών και βρέθηκαν αρνητικά για HIV 1+2 και HCV αντισώματα και για το HBsAg.
- Καμία γνωστή δοκιμή δεν μπορεί να διασφαλίσει ότι τα προϊόντα που παράγονται από ανθρώπινες ή ζωικές πηγές είναι απαλλαγμένα από μολυσματικούς παράγοντες. Απαιτείται προσοχή κατά τη χρήση και απόρριψη κάθε φιαλιδίου και των περιεχομένων του.

ΑΠΟΡΡΙΨΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ ΚΑΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΔΙΑΡΡΟΩΝ

Για πληροφορίες σχετικά με την απόρριψη των αντιδραστηρίων και την απολύμανση ενός χώρου διαρροής δείτε τα **Δελτία Δεδομένων Ασφαλείας Υλικών**, τα οποία είναι διαθέσιμα κατόπιν αιτήματος.

ΜΑΡΤΥΡΕΣ ΚΑΙ ΣΥΜΒΟΥΛΕΣ

- Κατά τη χρήση κάθε παρτίδας δοκιμών, συνιστούμε να εξετάζεται ένας θετικός (ασθενής Anti-D (weak Anti-D) <0,1 IU/ml) και ένας αρνητικός (ένας αδρανής ορός) μάρτυρας. Εάν οι μάρτυρες δεν δώσουν τα αναμενόμενα αποτελέσματα, οι δοκιμές θα πρέπει να θεωρούνται άκυρες.
- Οι τεχνικές αντισφαιρίνης μπορούν να θεωρηθούν έγκυρες μόνο εάν όλες οι αρνητικές δοκιμές αντιδράσουν θετικά με τα ευαισθητοποιημένα με IgG ερυθροκύτταρα.
- Πριν από τη χρήση, αφήστε το αντιδραστήριο να θερμανθεί σε θερμοκρασία δωματίου. Αμέσως μετά τη χρήση του αντιδραστηρίου, αποθηκεύστε το πάλι σε θερμοκρασία 2-8 °C.
- Στην ενότητα **Συνιστώμενες Τεχνικές** μία σταγόνα είναι περίπου 50μl όταν χρησιμοποιείται το παρεχόμενο σταγονόμετρο του φιαλιδίου.
- Η χρήση των αντιδραστηρίων και η ερμηνεία των αποτελεσμάτων θα πρέπει να διενεργείται από το κατάλληλο εκπαιδευμένο και εξειδικευμένο προσωπικό σύμφωνα με τις απαιτήσεις της χώρας όπου χρησιμοποιούνται τα αντιδραστήρια.
- Ο χρήστης θα πρέπει να καθορίζει την καταλληλότητα των αντιδραστηρίων για χρήση σε άλλες τεχνικές.

ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ

- Πλυστικό κυττάρων Coombs.
- Γυάλινα σωληνάρια δοκιμής (10 x 75 mm ή 12 x 75 mm).
- Ευαισθητοποιημένα με IgG ερυθροκύτταρα πχ. Coombs Control Cells της Lorne (Κατ.# 970010).
- Αδρανές αντισώμα πχ. Lorne Inert AB Serum (Κατ.# 110010).
- Διάλυμα Χαμηλής Ιοντικής Ισχύος (LISS): Περιέχει 0,03M NaCl, 0,003M Na₂HPO₄: ρυθμιστικό διάλυμα NaH₂PO₄ pH 6,7 στους 22°C ± 1°C και 0,24M γλυκίνη.
- Αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (PBS) (pH 6,8–7,2) ή Ισοτονικό αλατούχο διάλυμα (pH 6,5–7,5).
- Ογκομετρικές πιπέτες.
- Υδατόλουτρο ή επωαστήρας ξηρής θερμότητας ρυθμισμένος στους 37 °C ± 2 °C.
- Ασθενές anti-D (weak anti-D) πχ. Lorne Precise Weak Anti-D (Κατ.# 209005).

ΣΥΝΙΣΤΩΜΕΝΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

A. Τεχνική Άμεσης Αντισφαιρίνης (DAT)

- Πλύνετε 1 σταγόνα ερυθροκυττάρων (2-3% εναιωρήματος σε PBS ή Ισοτονικό αλατούχο διάλυμα) 4 φορές με PBS ή Ισοτονικό αλατούχο διάλυμα, φροντίζοντας να αποχύσετε το αλατούχο διάλυμα μεταξύ των πλύσεων και επανεναιωρήστε κάθε σφαιρίδιο ερυθροκυττάρου έπειτα από κάθε πλύση. Αποχύστε πλήρως το αλατούχο διάλυμα έπειτα από την τελευταία πλύση.
- Προσθέστε 2 σταγόνες του αντιδραστηρίου Lorne AHG Elite σε κάθε στεγνό κυτταρικό σφαιρίδιο.
- Αναμίξτε επιμελώς και φυγοκεντρήστε όλα τα σωληνάρια για 20 δευτερόλεπτα σε 1000 rcf ή για τον κατάλληλο εναλλακτικό χρόνο και δύναμη.
- Επανεκαιωρήστε απαλά το σφαιρίδιο ερυθροκυττάρων και διαβάστε μακροσκοπικά για συγκόλληση.

B. Τεχνική Έμμεσης Αντισφαιρίνης (Φυσιολογικής ιοντικής ισχύος διάλυμα (NISS) IAT)

1. Παρασκευάστε εναιώρημα 2-3% των ερυθροκυττάρων σε PBS ή ισοτονικό αλατούχο διάλυμα.
2. Τοποθετήστε σε ένα σημασμένο σωληνάριο δοκιμής: 2 σταγόνες ορού δοκιμής 1 σταγόνα εναιωρήματος ερυθροκυττάρων.
3. Ανακατέψτε καλά και επωάστε σε 37 °C για 15 λεπτά.
4. Πλύνετε τα ερυθροκύτταρα 4 φορές με PBS ή Ισοτονικό αλατούχο διάλυμα, φροντίζοντας να αποχύσετε το αλατούχο διάλυμα μεταξύ των πλύσεων και επανεναιωρήστε κάθε σφαιρίδιο ερυθροκυττάρου έπειτα από κάθε πλύση. Αποχύστε πλήρως το αλατούχο διάλυμα έπειτα από την τελευταία πλύση.
5. Προσθέστε 2 σταγόνες του αντιδραστήριου Lorne AHG Elite σε κάθε στεγνό κυτταρικό σφαιρίδιο.
6. Αναμίξτε επιμελώς και φυγοκεντρήστε όλα τα σωληνάκια για 20 δευτερόλεπτα σε 1000 gcf ή για τον κατάλληλο εναλλακτικό χρόνο και δύναμη.
7. Επανεπαιωρήστε απαλά το σφαιρίδιο ερυθροκυττάρων και διαβάστε μακροσκοπικά για συγκόλληση.

Γ. Τεχνική Έμμεσης Αντισφαιρίνης (Διάλυμα Χαμηλής Ιοντικής Ισχύος (LISS) IAT)

1. Παρασκευάστε εναιώρημα 1,5-2% των ερυθροκυττάρων σε Διάλυμα Χαμηλής Ιοντικής Ισχύος (LISS).
2. Τοποθετήστε σε ένα σημασμένο σωληνάριο δοκιμής: 2 σταγόνες ορού δοκιμής 2 σταγόνες εναιωρήματος ερυθροκυττάρων.
3. Ανακατέψτε καλά και επωάστε σε 37 °C για 15 λεπτά.
4. Ακολουθήστε τα βήματα 4 έως 7 της **NISS IAT** παραπάνω.

ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΤΩΝ ΔΟΚΙΜΩΝ

1. **Θετικό:** Η συγκόλληση των ερυθροκυττάρων συνιστά ένα θετικό αποτέλεσμα δοκιμής και εντός των αποδεκτών περιορισμών της διαδικασίας δοκιμής, υποδηλώνει την παρουσία της IgG και/ή συμπληρώματος (C3d / C3b) στα ερυθροκύτταρα.
2. **Αρνητικό:** Η έλλειψη συγκόλλησης των ερυθροκυττάρων συνιστά αρνητικό αποτέλεσμα και εντός των αποδεκτών περιορισμών της διαδικασίας δοκιμής, υποδηλώνει την απουσία της IgG και/ή του συμπληρώματος (C3d / C3b) στα ερυθροκύτταρα.

ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΩΝ

1. Τα βήματα πλύσης θα πρέπει να ολοκληρώνονται χωρίς διακοπές και οι δοκιμές να φυγοκεντρούνται και να διαβάζονται αμέσως μετά την προσθήκη του αντιδραστήριου. Οι καθυστερήσεις ενδέχεται να οδηγήσουν σε διάσπαση των συμπλοκών αντιγόνου-αντισώματος προκαλώντας ψευδώς αρνητικές ή ασθενείς θετικές αντιδράσεις.
2. Απαιτείται προσοχή κατά την ερμηνεία των αποτελεσμάτων των δοκιμών που πραγματοποιήθηκαν σε άλλες θερμοκρασίες εκτός των **συνιστώμενων**.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

1. Τα ερυθροκύτταρα τα οποία έχουν θετική δοκιμή άμεσης αντισφαιρίνης (DAT) λόγω της επικάλυψης με IgG δεν είναι δυνατόν να τυποποιηθούν με τις **Τεχνικές Έμμεσης Αντισφαιρίνης**.
2. Μία θετική DAT λόγω της ευαισθητοποίησης του συμπληρώματος ενδέχεται να μην αντικατοπτρίζει *in vivo* τη σύνδεση του συμπληρώματος εάν τα κύτταρα δοκιμής προέρχονται από ένα κατεψυγμένο θρομβωμένο δείγμα.
3. Η ανεπαρκής πλύση των ερυθροκυττάρων στις τεχνικές έμμεσης αντισφαιρίνης ενδέχεται να εξουδετερώσει το αντιδραστήριο AHG.
4. Έπειτα από την ολοκλήρωση της φάσης της πλύσης το πλεονάζον υπολειπόμενο αλατούχο διάλυμα ενδέχεται να διαλύσει το AHG Elite, μειώνοντας έτσι την ισχύ του.
5. Ένα αρνητικό αποτέλεσμα της δοκιμής άμεσης αντισφαιρίνης δεν αποκλείει υποχρεωτικά την κλινική διάγνωση της ABO Αιμολυτικής Νόσου του Νεογνού ή την Αυτοάνοση Αιμολυτική Αναιμία. Επίσης δεν αποκλείει την HDN, ειδικότερα σε περίπτωση που υπάρχει η υποψία ABO συμβατότητας.
6. Μπορούν επίσης να προκύψουν ψευδώς αρνητικά ή ψευδώς θετικά αποτελέσματα λόγω:
 - Μόλυνσης των υλικών προς δοκιμή
 - Λανθασμένης αποθήκευσης, συγκέντρωσης κυττάρων, χρόνου ή θερμοκρασίας επώασης
 - Λανθασμένης ή υπερβολικής φυγοκέντρωσης

ΕΙΔΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

1. Πριν την αποδέσμευσή της, κάθε παρτίδα αυτών των αντιδραστηρίων υποβάλλεται σε δοκιμή με χρήση των συνιστώμενων μεθόδων που αναγράφονται στις παρούσα Οδηγίες Χρήσης έναντι των ερυθροκυττάρων που είναι επικαλυμμένα με τα Anti-D, Anti-K και Anti-Fy^a ώστε να ελεγχθεί η κατάλληλη δραστηριότητα. Οι δοκιμές συμμορφώνονται με τις απαιτήσεις όπως δηλώνονται στην τρέχουσα έκδοση των «Οδηγιών περί Υπηρεσιών Μετάγγισης Αίματος στο Ηνωμένο Βασίλειο».
2. Η ισχύς των anti-IgG και anti-C3d έχει εξεταστεί έναντι των ακόλουθων ελάχιστων προτύπων αναφοράς ισχύος που λήφθηκαν από το Εθνικό Ινστιτούτο Βιολογικών Προτύπων και Ελέγχου (NIBSC):
 - Πρότυπο αναφοράς για το Anti-AHG 96/666
3. Η ισχύς του Anti-C3d αποδεικνύεται στις δοκιμές όπου χρησιμοποιούνται κύτταρα επικαλυμμένα με C3d και C3b.
4. Η παρουσία των μολυσματικών ετεροειδικών συγκολλητινών ή αντισωμάτων έναντι του C4d έχει αποκλειστεί σε δοκιμές που χρησιμοποιούν ερυθροκύτταρα όλων των ομάδων ABO και κύτταρα επικαλυμμένα με C4d.
5. Η δραστηριότητα οποιωνδήποτε συστατικών Anti-IgM, Anti-IgA ή Anti-ελαφρις αλυσίδας που ενδέχεται να υπάρχουν δεν έχει αποδειχθεί.

6. Ο Ποιοτικός Έλεγχος των αντιδραστηρίων πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας ερυθροκύτταρα ο φαινότυπος των οποίων είχε επιβεβαιωθεί από κάποιο κέντρο μετάγγισης αίματος του Η.Β. και πριν από τη χρήση είχαν πλυθεί με PBS ή με Ισοτονικό αλατούχο διάλυμα.

ΑΠΟΠΟΙΗΣΗ ΕΥΘΥΝΩΝ

1. Ο χρήστης είναι υπεύθυνος για την απόδοση των αντιδραστηρίων σε οποιαδήποτε άλλη μέθοδο εκτός εκείνων που αναφέρονται στις **Συνιστώμενες Τεχνικές**.
2. Οποιαδήποτε απόκλιση από τις **Συνιστώμενες Τεχνικές** θα πρέπει να επικυρώνεται πριν από τη χρήση.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

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

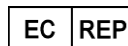
ΔΙΑΘΕΣΙΜΑ ΜΕΓΕΘΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΟΥ

	Μέγεθος Φιαλιδίου	Αριθμός Καταλόγου	Δοκιμές ανά φιαλίδιο
Lorne AHG Elite (Clear)	10 ml	415010	100
	1000 ml	415000*	10.000
Lorne AHG Elite (Green)	10 ml	435010	100
	1000 ml	435000*	10.000

*Το μέγεθος αυτό προορίζεται μόνο για Περαιτέρω Κατασκευαστική Χρήση και ως εκ τούτου δεν φέρει σήμανση CE.



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



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