

REAGENTI MONOCLONALI PER LA DETERMINAZIONE DEL GRUPPO SANGUIGNO
ISTRUZIONI PER L'USO

Anti-M Monoclonal: Per tecniche in provetta, Bio-Rad-ID, Ortho BioVue e piastra per microtitolazione.

RIEPILOGO

L'antigene M fa parte del sistema MNS e fu segnalato per la prima volta nel 1927. L'espressione dell'antigene M sugli eritrociti può mostrarne la quantità. Anti-M è stato raramente coinvolto nella Malattia emolitica del neonato o in reazioni trasfusionali emolitiche.

Anti-M	Anti-N	Fenotipo	Caucasici ¹	Afroamericani ¹
+	0	M+N-	28%	25,4%
+	+	M+N+	50%	48,4%
0	+	M-N+	22%	26,7%

USO PREVISTO

Il reagente per la determinazione del gruppo sanguigno è destinato ad essere utilizzato per determinare qualitativamente la presenza o l'assenza dell'antigene M sugli eritrociti dei donatori di sangue o dei pazienti che necessitano di una trasfusione sanguigna, se analizzati secondo le tecniche raccomandate indicate nelle presenti istruzioni per l'uso.

PRINCIPIO

Il reagente contiene anticorpi contro l'antigene M presente sugli eritrociti umani e causa l'agglutinazione (formazione di aggregati) diretta degli eritrociti umani che trasportano l'antigene M. L'assenza di agglutinazione (mancata formazione di aggregati) in genere indica l'assenza dell'antigene M (vedere **Limitazioni**).

REAGENTI

Il reagente Lorne Monoclonal Anti-M per la determinazione del gruppo sanguigno è un reagente contenente un anticorpo IgG monoclonale murino (clone # LM110/140) diluito in un tampone contenente cloruro di sodio (0,6 g%), albumina bovina (4,0 g%) e un conservante. Il reagente non contiene né comprende sostanze CMR, o sostanze che alterano il sistema endocrino o che potrebbero provocare una sensibilizzazione o una reazione allergica nell'utilizzatore. Il reagente viene fornito alla diluizione ottimale per l'uso con tutte le tecniche raccomandate indicate di seguito senza la necessità di ulteriori diluizioni o aggiunte. Per il numero di riferimento del lotto e la data di scadenza vedere **Etichetta della fiala**.

CONSERVAZIONE

Conservare le fiale di reagente a 2-8°C dal momento della ricezione. La conservazione prolungata a temperature al di fuori di questo intervallo può provocare una perdita accelerata della reattività del reagente. Questo reagente è stato sottoposto a studi di stabilità al trasporto a 37°C e -25°C come descritto nel documento BS EN ISO 23640:2015.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

I campioni di sangue possono essere raccolti in anticoagulanti EDTA, citrato, CPDA o come campione coagulato. Analizzare i campioni il prima possibile dopo aver effettuato la raccolta. In caso di ritardo nei test, conservare i campioni a 2-8 °C. I campioni che presentano evidente emolisi o contaminazione microbica non devono essere utilizzati per i test. I campioni di sangue che mostrano segni di lisi possono dare risultati non attendibili. È preferibile (ma non indispensabile) lavare tutti i campioni di sangue con soluzione salina non tamponata prima di analizzarli.

PRECAUZIONI

1. I reagenti sono destinati esclusivamente all'uso diagnostico *in vitro*.
2. Se una fiala di reagente presenta crepe o perdite, gettare via il contenuto immediatamente.
3. Non usare i reagenti dopo la data di scadenza (vedere **Etichetta della fiala**).
4. Non usare i reagenti se è presente un precipitato.
5. Quando si maneggiano i reagenti, indossare indumenti protettivi quali guanti monouso e un camice da laboratorio.
6. I reagenti sono stati filtrati attraverso una capsula da 0,2 µm per ridurre la carica batterica, ma non vengono forniti sterili. Dopo l'apertura di una fiala, il contenuto rimane vitale fino alla data di scadenza, a condizione che non vi sia una torbidità marcata, che può indicare il deterioramento o la contaminazione del reagente.
7. I reagenti contengono <0,1% di azoturo di sodio. L'azoturo di sodio può risultare tossico se ingerito e può reagire con le tubature in piombo o rame fino a formare azoturi metallici esplosivi. Per lo smaltimento sciacquare con grandi volumi di acqua.
8. I materiali utilizzati per la realizzazione dei reagenti sono stati testati dal produttore e sono risultati negativi agli anticorpi HIV 1+2 e HCV e ad HBsAg mediante test microbiologici approvati.
9. Nessun test noto può garantire che i prodotti derivati da fonti umane o animali siano privi di agenti infettivi. È necessario prestare attenzione durante l'uso e lo smaltimento di ciascuna fiala e del suo contenuto.

SMALTIMENTO DEL REAGENTE E GESTIONE DELLE FUORIUSCITE

Per informazioni sullo smaltimento del reagente e sulla decontaminazione di un sito di fuoriuscita, vedere le **Schede di dati di sicurezza dei materiali**, disponibili su richiesta.

CONTROLLI E CONSIGLI

1. Si raccomanda di analizzare un controllo positivo (idealmente eterozigote) e un controllo negativo in parallelo con ogni lotto dei test. I test devono essere considerati non validi se i controlli non mostrano i risultati previsti.
2. Durante la tipizzazione degli eritrociti di un paziente con diagnosi di una malattia per la quale gli eritrociti vengono rivestiti da anticorpi o altre proteine (quali HDN, AIHA), è importante analizzare gli eritrociti del paziente mediante il Negative Control di Lorne (catalogo # 650010). I test devono essere considerati non validi se gli eritrociti sono agglutinati mediante il Negative Control di Lorne.
3. Prima dell'uso, far riscaldare il reagente fino a temperatura ambiente. Dopo aver utilizzato il reagente, riporlo nel luogo di conservazione a 2-8°C.
4. Nelle **Tecniche raccomandate** un volume è di circa 50µl se si usa la fiala contagocce fornita.
5. L'uso dei reagenti e l'interpretazione dei risultati devono essere eseguiti da personale adeguatamente formato e qualificato in conformità ai requisiti del paese in cui il reagente è in uso.
6. L'utilizzatore deve stabilire l'idoneità dei reagenti per l'uso in altre tecniche.

REAGENTI E MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Tecnica in provetta

- Centrifuga con velocità di rotazione di 1000 g per 20 secondi.
- Provette in vetro (10 x 75 mm o 12 x 75 mm).
- Eritrociti di controllo positivo (idealmente M+N+) e negativo (N+N+).

Tecnica di microtipizzazione Bio-Rad-ID

- ID-Card Bio-Rad (cloruro di sodio, test enzimatici e agglutinine a freddo).
- ID-Centrifuga Bio-Rad.

Tecnica di tipizzazione Ortho BioVue

- Cassette Ortho BioVue System (Neutre).
- Centrifuga Ortho BioVue System.

Tecnica con piastra per microtitolazione

- Piastre per microtitolazione a pozzetto "a U" omologate.
- Centrifuga per piastre per microtitolazione.
- Agitatore per piastre.

Tutte le tecniche

- Pipette volumetriche.
- Soluzione salina non tamponata.

TECNICHE RACCOMANDATE

A. Tecnica in provetta

1. Preparare una sospensione di eritrociti al 2-3% in soluzione salina non tamponata (**vedere Limitazioni**).
2. Inserire in una provetta etichettata: 1 volume di reagente Lorne e 1 volume di sospensione di eritrociti.
3. Centrifugare tutte le provette per 20 secondi a 1000 rcf o per un tempo e una forza alternativi adeguati.
4. Risospendere delicatamente il sedimento eritrocitario e procedere alla lettura macroscopica dell'agglutinazione.

B. Tecnica di tipizzazione Ortho BioVue (cassette neutre)

1. Preparare una sospensione di eritrociti allo 0,8% in soluzione salina non tamponata (**vedere Limitazioni**).
2. Rimuovere la linguetta di alluminio dal numero necessario di camere di reazione sulle cassette neutre.
3. Inserire nella camera di reazione appropriata: 50µl di sospensione di eritrociti e 40µl di reagente Lorne.
4. Centrifugare la/e cassetta/e in una Centrifuga Ortho BioVue.
5. Procedere alla lettura macroscopica dell'agglutinazione.

C. Tecnica di microtipizzazione Bio-Rad-ID

1. Preparare una sospensione di eritrociti allo 0,8% in soluzione salina non tamponata (**vedere Limitazioni**).
2. Rimuovere la linguetta di alluminio dal numero necessario di microprovette sulla/e ID-Card con cloruro di sodio, test enzimatico e agglutinine a freddo.
3. Inserire nella microprovetta appropriata: 50µl di sospensione di eritrociti e 25µl di reagente Lorne.

4. Centrifugare la/le ID-Card in una centrifuga Bio-Rad-ID.
5. Procedere alla lettura macroscopica dell'agglutinazione.

D. Tecnica in piastra per microtitolazione, con pozzetti "a U"

1. Preparare una sospensione di eritrociti al 2-3% in soluzione salina non tamponata (**vedere Limitazioni**).
2. Inserire nel pozzetto appropriato: 1 volume di reagente Lorne e 1 volume di sospensione di eritrociti.
3. Miscelare accuratamente, preferibilmente utilizzando un agitatore per micropiastre, avendo cura di evitare la contaminazione incrociata dei pozzetti.
4. Incubare a temperatura ambiente per 15 minuti (il tempo dipende dall'utilizzatore).
5. Centrifugare la micropiastra per 1 minuto a 140 rcf o per un tempo e una forza alternativi adeguati.
6. Risospendere i sedimenti utilizzando l'agitazione accuratamente controllata su un agitatore per micropiastre.
7. Procedere alla lettura macroscopica o tramite un lettore automatico omologato.
8. Eventuali reazioni deboli devono essere ripetute con la tecnica in provetta.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI DEL TEST

1. **Positivo:** L'agglutinazione degli eritrociti costituisce un risultato positivo del test e, entro i limiti accettati della procedura di test, indica la presenza dell'antigene M sugli eritrociti.
2. **Negativo:** L'assenza di agglutinazione degli eritrociti costituisce un risultato negativo e, entro i limiti accettati della procedura di test, indica l'assenza dell'antigene M sugli eritrociti.

STABILITÀ DELLE REAZIONI

1. La lettura dei test in provetta deve essere effettuata immediatamente dopo la centrifugazione. Eventuali ritardi possono dare origine alla dissociazione dei complessi antigene-anticorpo con conseguenti reazioni false negative o deboli positive.
2. Occorre prestare attenzione nell'interpretazione dei risultati dei test effettuati a temperature diverse da quelle raccomandate.

LIMITAZIONI

1. Questo reagente reagisce in modo ottimale con gli antigeni M a pH 8.5. Sebbene il reagente contenga un tampone ideale per questo pH, è necessario attenersi ai punti seguenti:
 - Le sospensioni di eritrociti in mezzi tamponati (per esempio la soluzione di Alsever) devono essere lavate almeno 3 volte in soluzione salina non tamponata prima dell'uso.
 - L'uso di mezzi tamponati per il lavaggio o la preparazione di sospensioni di eritrociti può dare risultati spuri dei test e deve essere evitato.
 - Non utilizzare soluzione salina non tamponata con pH inferiore a 6 per il lavaggio o la preparazione di sospensioni di eritrociti.
2. Non utilizzare cellule modificate da enzimi proteolitici in quanto gli antigeni MN potrebbero essere stati distrutti.
3. Al contrario, l'espressione inibita o ridotta di alcuni antigeni del gruppo sanguigno può dare luogo a reazioni false negative, pertanto occorre sempre prestare attenzione quando si assegnano i fenotipi in base ai risultati dei test.
4. I risultati falsi positivi o falsi negativi possono verificarsi anche a causa di:
 - Contaminazione dei materiali dei test
 - Errata conservazione, concentrazione cellulare, tempo o temperatura di incubazione
 - Errata o eccessiva centrifugazione
 - Scostamento dalle tecniche raccomandate

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI SPECIFICHE

1. Prima del rilascio, ogni lotto di questo reagente è stato testato utilizzando i metodi di analisi raccomandati elencati nelle presenti istruzioni per l'uso. I test sono risultati conformi ai requisiti di analisi indicati nella versione/edizione attuale delle "Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom" ("Linee guida per i servizi di trasfusione di sangue nel Regno Unito").
2. La specificità degli anticorpi monoclonali di origine è dimostrata utilizzando un pannello di cellule antigene-negative.
3. Il Controllo qualità dei reagenti è stato effettuato utilizzando eritrociti con fenotipi verificati da un centro trasfusionale britannico e lavati con soluzione salina non tamponata prima dell'uso.

DICHIARAZIONE DI NON RESPONSABILITÀ

1. L'utilizzatore è responsabile delle prestazioni dei reagenti con qualsiasi metodo diverso da quelli indicati nelle **Tecniche raccomandate**.
2. Qualsiasi scostamento dalle **Tecniche raccomandate** deve essere approvato prima dell'uso⁵.

BIBLIOGRAFIA

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

new techniques for blood grouping, antibody screening and cross matching. Transfusion Medicine, 1995, 5, 145-150.

DIMENSIONI DEI REAGENTI DISPONIBILI

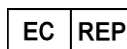
	Dimensione fiala	Numero catalogo	Test per fiala
Anti-M Monoclonal	2 ml	772002	40
	1000 ml	772000*	20.000

*Questa dimensione è esclusivamente per uso successivo (FFMU), e pertanto non è dotata di marchio CE



Lorne Laboratories Limited

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



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