

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

Anti-P₁ Monoclonal: Per tecniche in provetta, Bio-Rad-ID e Ortho BioVue.

RIEPILOGO

Landsteiner scoprì l'antigene P₁ nel 1927. Anti-P₁ in genere non reagisce al di sopra della temperatura ambiente e spesso non viene rilevato nei test di routine. Anti-P₁ non causa la Malattia emolitica del neonato ed è stato associato solo raramente a reazioni trasfusionali emolitiche.

Anti-P ₁	Fenotipo	Caucasici ²	Afroamericani ²
+	P ₁	79%	94%
0	P ₂	21%	6%

USO PREVISTO

Il reagente per la determinazione del gruppo sanguigno è destinato ad essere utilizzato per determinare qualitativamente la presenza o l'assenza degli antigeni P₁ 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 P₁ presente sugli eritrociti umani e causa l'agglutinazione (formazione di aggregati) diretta degli eritrociti che trasportano l'antigene P₁. L'assenza di agglutinazione (assenza di formazione di aggregati) in genere indica l'assenza dell'antigene P₁ (vedere **Limitazioni**).

REAGENTE

Il reagente Lorne Monoclonal IgM Anti-P₁ per la determinazione del gruppo sanguigno contiene anticorpi IgM monoclonali di topo preparati a partire dalla linea cellulare, Clone 650, diluita in una soluzione contenente cloruro di sodio e albumina bovina. 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 tampone fosfato salino (PBS) o soluzione salina isotonica prima di analizzarli.

PRECAUZIONI

- Il reagente è destinato esclusivamente all'uso diagnostico *in vitro*.
- Se una fiala di reagente presenta crepe o perdite, gettare via il contenuto immediatamente.
- Non usare il reagente dopo la data di scadenza (vedere **Etichetta della fiala**).
- Non usare il reagente se è presente un precipitato.
- Quando si maneggiano i reagenti, indossare indumenti protettivi quali guanti monouso e un camice da laboratorio.
- Il reagente è stato filtrato attraverso una capsula da 0,2 µm per ridurre la carica batterica, ma non viene fornito sterile. 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.
- Il reagente contiene <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.
- 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

- Si raccomanda di analizzare un controllo positivo (idealmente cellule P₁ deboli) 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.
- Nelle **Tecniche raccomandate** un volume è di circa 50µl se si usa la fiala contagocce fornita.
- L'uso del reagente 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.
- L'utilizzatore deve stabilire l'idoneità del reagente per l'uso in altre tecniche.

REAGENTI E MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Tecnica in provetta

- Provette in vetro (10 x 75 mm o 12 x 75 mm).
- Centrifuga con velocità di rotazione di 1000 g per 20 secondi.
- Soluzione di PBS (pH 6.8-7.2) o soluzione salina isotonica (pH 6.5-7.5).
- Eritrociti di controllo positivo (idealmente cellule P₁ deboli) e negativo.

Tecnica di microtipizzazione Bio-Rad-ID

- ID-Card Bio-Rad (cloruro di sodio, test enzimatici e agglutinine a freddo).
- ID-Centrifuge Bio-Rad.
- ID-CellStab o ID-Diluent 2 Bio-Rad.

Tecnica di tipizzazione Ortho BioVue

- Cassette Ortho BioVue System (Neutre).
- Centrifuga Ortho BioVue System.
- Diluente globuli rossi 0,8% Ortho.

Tutte le tecniche

- Pipette volumetriche.
- Frigorifero impostato a 2-8°C.

TECNICHE RACCOMANDATE

A. Tecnica in provetta

- Preparare una sospensione di eritrociti al 2-3% in PBS o soluzione salina isotonica.
- Inserire in una provetta etichettata: 1 volume di reagente Lorne e 1 volume di sospensione di eritrociti.
- Miscelare accuratamente e incubare a 2-8°C per 15 minuti.
- Centrifugare tutte le provette per 20 secondi a 1000 rcf o per un tempo e una forza alternativi adeguati.
- Risospendere delicatamente il sedimento eritrocitario e procedere alla lettura macroscopica dell'agglutinazione.

B. Tecnica di microtipizzazione Bio-Rad-ID

- Preparare una sospensione di eritrociti allo 0,8% in ID-CellStab o ID-Diluent 2.
- Rimuovere la linguetta di alluminio dal numero necessario di microprovette su una scheda gel con cloruro di sodio, test enzimatici e agglutinine a freddo.
- Inserire nella microprovetta appropriata: 50µl di sospensione di eritrociti e 25µl di reagente Lorne.
- Incubare la ID-Card per 15 minuti a 2-8°C.
- Centrifugare la ID-Card in una centrifuga Bio-Rad-ID.
- Procedere alla lettura macroscopica dell'agglutinazione.

C. Tecnica di tipizzazione Ortho BioVue

- Preparare una sospensione di eritrociti allo 0,8% in Diluente globuli rossi 0,8% Ortho.
- Rimuovere la linguetta di alluminio dal numero di camere di reazione necessario.
- Inserire nella camera di reazione appropriata: 50µl di sospensione di eritrociti e 40µl di reagente Lorne.
- Incubare la/e cassetta/e per 15 minuti a 2-8°C.
- Centrifugare la/e cassetta/e in una Centrifuga Ortho BioVue System.
- Procedere alla lettura macroscopica dell'agglutinazione.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI DEI TEST

- 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 P₁ 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 P₁ sugli eritrociti.

STABILITÀ DELLE REAZIONI

1. Effettuare la lettura dei test 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. L'antigene P₁ è scarsamente espresso sulle cellule dei neonati.
2. Vi è un'ampia variazione nella quantità di antigene P₁ presente su diverse cellule P₁ positive. La forza di agglutinazione osservata con tali cellule può variare di conseguenza.
3. Il sangue conservato può dare reazioni più deboli rispetto al sangue fresco.
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 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 dell'anticorpo monoclonale di origine è dimostrata utilizzando un pannello di cellule antigene-negative.
3. Il Controllo qualità del reagente è stato effettuato utilizzando eritrociti con fenotipi verificati da un centro trasfusionale britannico e lavati con PBS o soluzione salina isotonica prima dell'uso.

DICHIARAZIONE DI NON RESPONSABILITÀ

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

BIBLIOGRAFIA

1. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition, Montgomery Scientific, Miami, 1985, Chapter 9.
2. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 191.
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.

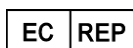
DIMENSIONI DEI REAGENTI DISPONIBILI

Dimensione fiala	Numero catalogo	Test per fiala
2 ml	315002	40
1000 ml	315000*	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