



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

Anti-N Lectin: Per tecniche in provetta e Bio-Rad-ID.

RIEPILOGO

L'antigene N fa parte del sistema MNSs ed è stato descritto nel 1927. Anti-N generalmente è reattivo a temperatura ambiente e quindi è raramente implicato in reazioni trasfusionali e nella malattia emolitica del neonato.

Anti-M	Anti-N	Fenotipo	Caucasici ¹	Afroamericani ¹
+	0	M+N-	28%	25,5%
+	+	M+N+	50%	48,4%
0	+	M-N+	22%	26,7%

DESTINAZIONE D'USO

Questo reagente per la determinazione del gruppo sanguigno è destinato a essere utilizzato per determinare qualitativamente la presenza o l'assenza dell'antigene N (MNS2) sugli eritrociti dei donatori di sangue o dei pazienti che necessitano di una trasfusione di sangue, se analizzati secondo le tecniche raccomandate indicate nelle presenti istruzioni per l'uso.

PRINCIPIO

Il reagente contiene glicoproteine provenienti dalla foglia di *Vicia unijuga* le quali, dopo la centrifugazione, causano l'agglutinazione (formazione di aggregati) degli eritrociti che trasportano l'antigene N. L'assenza di agglutinazione (mancata formazione di aggregati) in genere indica l'assenza dell'antigene N (vedere **Limitazioni**).

REAGENTE

Il reagente per la determinazione del gruppo sanguigno Lorne Anti-N Lectin viene preparato a partire da un estratto di foglie di *Vicia unijuga*, diluito con una soluzione di cloruro di sodio contenente albumina bovina. Il reagente non contiene né è costituito da sostanze CMR o interferenti endocrine o che potrebbero provocare una sensibilizzazione o una reazione allergica nel paziente o nell'utilizzatore. Il reagente viene fornito alla diluizione ottimale per l'uso con tutte le tecniche raccomandate indicate di seguito e non richiede ulteriori diluizioni o aggiunte. Per il numero di riferimento del lotto e la data di scadenza vedere l'**Etichetta del flacone**.

CONSERVAZIONE

I flaconi di reagente devono essere conservati a temperature comprese tra 2 °C e 8 °C dal momento della ricezione. La conservazione prolungata a temperature al di fuori di questo intervallo può provocare una perdita accelerata di reattività del reagente. Questo reagente è stato sottoposto a studi di stabilità durante l'uso e il 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 utilizzando anticoagulanti come l'EDTA o il CPDA, oppure come campione coagulato. I campioni devono essere testati il prima possibile dopo il prelievo. In caso di ritardo nell'esecuzione dei test, conservare i campioni a 2-8 °C. I campioni che mostrano segni visibili di emolisi o contaminazione microbica non devono essere utilizzati per le analisi. 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 un flacone di reagente è incrinato o perde, gettare via immediatamente il contenuto.
- Non usare il reagente dopo la data di scadenza (vedere **Etichetta del flacone**).
- Non usare il reagente in presenza di precipitato.
- Quando si maneggiano i reagenti indossare indumenti protettivi, come 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. Una volta che un flacone è stato aperto, il contenuto deve rimanere vitale fino alla data di scadenza, purché non vi sia torbidità marcata, che può indicare il deterioramento o la contaminazione del reagente.
- Il reagente contiene lo 0,1% di sodio azide. Il sodio azide può essere tossico se ingerito e può reagire con il rame e il piombo delle tubature formando azidi metallici esplosivi. Per lo smaltimento sciacquare con grandi quantità di acqua.
- Non esistono test noti che possano garantire che i prodotti derivati da fonti umane o animali siano privi di agenti infettivi. Prestare attenzione durante l'uso e lo smaltimento di ciascun flacone e del suo contenuto.
- I materiali bovini sono ottenuti da fonti per le quali sono disponibili informazioni sull'origine. Gli animali donatori del materiale bovino sono stati ispezionati e certificati esenti da malattie e sono considerati a basso rischio di encefalopatia spongiforme trasmissibile (TSE).
- Una volta utilizzato il contenuto del flacone, gettare il flacone vuoto in un contenitore giallo per la combustione.

SMALTIMENTO DEL REAGENTE E GESTIONE DELLE FUORIUSCITE

Gestire i rifiuti in conformità alle normative locali, statali e nazionali. Per maggiori informazioni sullo smaltimento del reagente e sulla decontaminazione di un'area di fuoriuscita, consultare le **Schede di sicurezza dei materiali**, disponibili su richiesta.

CONTROLLI E CONSIGLI

- Si raccomanda di analizzare un controllo positivo (idealmente cellule eterozigoti) e un controllo negativo in parallelo con ciascun lotto dei test. I test devono essere considerati non validi se i controlli non mostrano i risultati attesi.
- Prima dell'uso, attendere che il reagente raggiunga la temperatura ambiente. Dopo aver utilizzato il reagente, riportarlo immediatamente nel luogo di conservazione a 2-8 °C.
- Nelle **Tecniche raccomandate** un volume è pari a circa 50 µl se si usa il flacone contagocce fornito.
- L'uso del reagente e l'interpretazione dei risultati devono essere affidati effettuati da personale formato e qualificato, in conformità con i requisiti del Paese di utilizzo del reagente. È responsabilità dell'utilizzatore stabilire l'idoneità del reagente per l'uso in altre tecniche.
- Il reagente viene utilizzato in una procedura di test manuale. È responsabilità dell'utilizzatore finale stabilire l'idoneità del dispositivo per l'uso in altre tecniche e/o sistemi di analisi.
- Ove applicabile, è richiesto l'uso di attrezzature calibrate o verificate.
- Qualora si verifici un incidente grave (secondo le definizioni riportate nelle normative pertinenti) attribuibile al reagente di Lorne, l'utilizzatore finale del reagente deve darne immediatamente notifica al fabbricante e all'autorità competente del Paese in cui si è verificato l'incidente.

REAGENTI E MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Tecnica in provetta

- Provette in vetro (10 x 75 mm o 12 x 75 mm).
- Centrifuga per provette in grado di girare a 1000 g per 20 secondi.
- Incubatore a bagnomaria o a secco equilibrato a 37 °C ± 2 °C.
- Soluzione di PBS (pH 6,8-7,2) o soluzione salina isotonica (pH 6,5-7,5).
- Eritrociti di controllo positivo (idealmente M+N+) e negativo (M+M+).

Tecnica di micro-tipizzazione Bio-Rad-ID

- ID-Card Bio-Rad (NaCl, test enzimatici e agglutinine a freddo).
- ID-Centrifuge Bio-Rad.
- ID-CellStab o ID-Diluent 2 Bio-Rad.
- ID-Incubator Bio-Rad equilibrato a 37 °C ± 2 °C.

Tutte le tecniche

- Pipette volumetriche.

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 di Lorne e 1 volume di sospensione di eritrociti.
- Mescolare accuratamente e incubare a 37 °C per 15 minuti.
- Centrifugare tutte le provette per 20 secondi a 1000 rcf oppure impostando un tempo e una forza alternativi idonei.
- Riportare delicatamente in sospensione il sedimento eritrocitario e procedere alla lettura macroscopica dell'agglutinazione.

B. Tecnica di micro-tipizzazione Bio-Rad-ID

- Preparare una sospensione di eritrociti allo 0,8% in ID-CellStab o ID-Diluent 2.
- Rimuovere il foglio di alluminio da tutte le microprovette su una gel-card Bio-Rad per test NaCl, test enzimatici e agglutinine a freddo secondo necessità.
- Inserire in una microprovetta idonea: 50 µl di sospensione di eritrociti e 25 µl di reagente di Lorne.
- Incubare la/e ID-Card per 15 minuti a 37 °C.
- Centrifugare la/e ID-Card in una ID-Centrifuge Bio-Rad.
- Procedere alla lettura macroscopica dell'agglutinazione.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI DEL 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 N sugli eritrociti.
- 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 N sugli eritrociti.

STABILITÀ DELLE REAZIONI

1. I test in provetta devono essere letti immediatamente dopo la centrifugazione. Eventuali ritardi possono causare la dissociazione dei complessi antigene-anticorpo portando a reazioni falsamente negative o debolmente positive.
2. Occorre prestare attenzione nell'interpretazione dei risultati dei test effettuati a temperature diverse da quelle raccomandate.

LIMITAZIONI

1. In caso di risultati ambigui, si raccomanda di lavare gli eritrociti almeno 2 volte.
2. Il sangue conservato può dare reazioni più deboli rispetto al sangue fresco.
3. Risultati falsi positivi o falsi negativi possono verificarsi anche a causa di:
 - Contaminazione dei materiali di test
 - Conservazione, concentrazione cellulare, tempo di incubazione o temperatura errati
 - Centrifugazione errata o eccessiva
 - Scostamento dalle tecniche raccomandate

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI SPECIFICHE

1. Il reagente è destinato all'uso con campioni di sangue umano.
2. 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 nelle "Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom" ("Linee guida per i servizi di emotrasfusione nel Regno Unito").
3. Il controllo di qualità dei reagenti è stato eseguito utilizzando eritrociti con fenotipi verificati da un centro trasfusionale del Regno Unito 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. Eventuali scostamenti dalle **Tecniche raccomandate** devono essere approvati prima dell'uso⁵.

BIBLIOGRAFIA

1. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Pagina 190.
2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3ª Edizione. Montgomery Scientific, Miami 1985; Capitolo 14.
3. AABB Technical Manual, 16ª edizione, AABB 2008.
4. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6ª Edizione 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.

FORMATI DISPONIBILI DEI REAGENTI

	Dimensione del flacone	Codice prodotto	Test per flacone
Anti-N Lectin	2 ml	312002	40
	1000 ml	312000*	20.000

*Questo formato è destinato esclusivamente a ulteriori impieghi in ambito manifatturiero (FFMU), pertanto è privo di marcatura CE/UKCA.

LEGENDA DEI SIMBOLI

Simbolo	Definizione	Simbolo	Definizione
	Fabbricante	REF	Codice prodotto
	Limitazioni di temperatura		Utilizzare entro AAAA-MM-GG
IVD	Dispositivo medico-diagnostico in vitro		Consultare le istruzioni per l'uso.
EC REP	Mandatario	LOT	Numero di lotto
	Non sterile		



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

EC REP

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