

Instructions for use



| | | |
|--|---|--------------------|
| Sanquin Reagents B.V. Plesmanlaan 125 1066 CX Amsterdam The Netherlands | Phone: +31 20 5123599 Fax: +31 20 5123570 Reagents@sanquin.nl www.sanquin.org/reagents | |
| Pelikloon anti-A (IgM) monoclonal | REF K 1188 | IVD CE 0344 |
| Pelikloon anti-B (IgM) monoclonal | REF K 1189 | IVD CE 0344 |
| Pelikloon anti-A,B (IgM) monoclonal | REF K 1190 | IVD CE 0344 |
| 001_v03 06/2018 (it) | Solo per uso professionale | |

Reagenti gruppo ematici per la determinazione dell'antigene A e/o B sugli eritrociti umani

Informazioni generali

I reagenti monoclonali per la determinazione del gruppo sanguigno Pelikloon anti-A, anti-B e anti-A,B (IgM) (i numeri di clone sono specificati nel relativo certificato di analisi / documento di rilascio) vengono preparati utilizzando surnatanti di colture di linee cellulari derivate da ibridomi stabilizzati, come inizialmente descritto da Köhler e Milstein (Nature 1975). Questi reagenti monoclonali contengono anticorpi IgM murini e sono stati appositamente selezionati e sviluppati per fornire una alternativa affidabile ai reagenti policlonali. Tali reagenti soddisfano i requisiti delle normative e disposizioni vigenti. Le caratteristiche funzionali sono descritte nei documenti di rilascio forniti su richiesta a corredo del prodotto. Il principio del test è la tecnica di agglutinazione, basata sulla reazione antigene / anticorpo. I reagenti possono essere utilizzati in provetta o in micropiastra. Questi reagenti possono essere usati anche con sistemi automatici e richiedono la standardizzazione e la convalida da parte dell'utente. Si raccomanda vivamente l'inclusione di controlli positivi e negativi in ogni serie di determinazioni di gruppo sanguigno. Oltre a determinare il gruppo sanguigno ABO degli eritrociti, il siero del paziente deve essere analizzato per rilevare la presenza dei corrispondenti alloanticorpi anti-A e/o anti-B, utilizzando eritrociti reattivi A₁ e B (vedere il relativo foglietto illustrativo).

Avvertenze

Unicamente per uso diagnostico in vitro. Conservare i reagenti a una temperatura compresa tra 2–8°C. Non utilizzare flaconcini danneggiati o non sigillati. Non utilizzare i reagenti (aperti o non aperti) oltre la data di scadenza riportata sull'etichetta del flaconcino. Come conservante è utilizzata la NaN₃ 0,1% (w/v). Per facilitarne il riconoscimento, i reagenti anti-A e anti-B sono stati colorati. I reagenti non possono essere considerati esenti da agenti infettivi. Prestare la massima cura nell'utilizzo e nello smaltimento di ciascun flacone e del rispettivo contenuto. La torbidità può essere un indice di contaminazione microbica. Per individuare il deterioramento del reagente, si raccomanda di sottoporlo a test nell'ambito del programma di controllo di qualità del laboratorio mediante controlli appropriati. Lo smaltimento dei rifiuti, al termine del test, dovrà essere eseguito nel rispetto delle normative interne di laboratorio.

Raccolta e preparazione dei campioni

I campioni di sangue devono essere prelevati in condizioni asettiche con o senza l'aggiunta di anticoagulanti. In caso di rinvio dell'analisi dei campioni ematici, la conservazione dovrà avere luogo a una temperatura di 2–8°C. La preparazione del campione è descritta nelle relative procedure di test.

Metodiche

Metodo in provetta

Requisiti provetta: provette di vetro con fondo arrotondato; dimensioni 75 x 10/12 mm.

1. Preparare una sospensione cellulare al 3–5% di eritrociti da analizzare, in fisiologica o nel proprio plasma o siero.
2. Introdurre in una provetta:
 - 1 goccia di reagente Pelikloon
 - 1 goccia di sospensione cellulare al 3–5% e mescolare accuratamente.
3. Centrifugare a 1000 rcf per 20 secondi o per un tempo appropriato in base alla calibrazione della centrifuga.
4. Risospendere le cellule agitando con attenzione e procedere alla lettura macroscopica dell'agglutinazione.

Metodo in micropiastra

Requisiti micropiastra: micropiastre in polistirene a pozzetti circolari.

1. Preparare una sospensione cellulare al 2–3% di eritrociti da analizzare in fisiologica o nel proprio plasma o siero.
2. Introdurre in un pozzetto:
 - 1 goccia di reagente Pelikloon
 - 1 goccia di sospensione cellulare al 2–3%
3. Miscelare accuratamente il contenuto per 5 secondi utilizzando un agitatore per micropiastre a 600–700 giri / min.
4. Incubare per 10–15 minuti a temperatura ambiente (18–25°C) senza agitare.
5. Centrifugare a 700 rcf per 10–20 secondi o per un tempo appropriato in base alla calibrazione della centrifuga.
6. Agitare nuovamente sull'agitatore per micropiastre a 600–700 giri / min. per 1–4 minuti o la durata necessaria per risospendere completamente le cellule nei pozzetti con reazioni negative.
7. Lasciare la micropiastra a riposo per 1 minuto per fare sedimentare gli agglutinati deboli.
8. A questo punto le reazioni possono essere lette macroscopicamente o mediante un lettore automatico.

Interpretazione

Una reazione positiva (es. l'agglutinazione) indica la presenza dell'antigene corrispondente. Una reazione negativa (es. nessuna agglutinazione visibile) indica l'assenza dell'antigene corrispondente. Il gruppo sanguigno ABO è determinato dal modello di reazione ottenuto con i vari antisieri (vedere tabella sottostante). Se il modello di reazione non coincide con una delle 4 combinazioni riportate qui di seguito, il motivo della discrepanza di risultati dovrà essere accertato prima di assegnare un gruppo sanguigno ABO al paziente / donatore in questione.

Reazioni di agglutinazione nella determinazione del gruppo sanguigno ABO di routine

| eritrociti + antisiero | | siero / plasma + eritrociti test | | | |
|---------------------------|--------|-------------------------------------|------------|-----------|---------------------------------|
| anti-A | anti-B | anti-A,B | cellule A1 | cellule B | gruppo sanguigno (frequenza) |
| 0 | 0 | 0 | + | + | O (46,7%) ⁴⁾ |
| + | 0 | + | 0 | + | A (41,7%) ⁴⁾ |
| 0 | + | + | + | 0 | B (8,6%) ⁴⁾ |
| + | + | + | 0 | 0 | AB (3,0%) ⁴⁾ |

Limitazioni

Risultati positivi imprevisti dovuti a: pseudoagglutinazione, autoagglutinazione, reazione a campo misto, impiego di gelatina Whartons unitamente a cellule di cordone ombelicale.

Risultati negativi o deboli dovuti a: antigeni deboli, reazione a campo misto, ridotta attività del reagente.

Bibliografia

1. Widmann F.K. ed; AABB Technical Manual, 11th ed. 1993, Bethesda (MD).
2. Race R.R. and Sanger R.; Blood Groups in Man, 6th ed. Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975.
3. Issitt P.D.; Applied Blood Group Serology 3rd ed. Montgomery Scientific Publications, Miami, Florida, USA, 1985.
4. Daniels G.; Human Blood Groups. Blackwell Science Ltd. 1995.
5. Guidelines for the Blood Transfusion Service H.M.S.O. 2nd ed. 1993.
6. Reid M.E., et al. The Blood Group Antigen FactsBook, FactsBook Series, 3rd ed. 2012

Si garantisce che i prodotti Sanquin daranno i risultati indicati nelle istruzioni d'uso del fabbricante originario. È essenziale attenersi rigorosamente a queste indicazioni circa le procedure e layout di prova e utilizzare i reagenti e le apparecchiature raccomandate. Sanquin declina ogni responsabilità per eventuali conseguenze derivanti dalla mancata osservanza di queste norme.