

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-D mix (IgG/IgM) monoclonal

REF K1157

IVD CE 0344

006_v04 07/2019 (it)

Solo per uso professionale

Reagente gruppo ematico per la determinazione dell'antigene D sugli eritrociti umani

Informazioni generali

Il reagente per la determinazione del gruppo sanguigno Pelikloon anti-D mix (IgG/IgM) monoclonal (i numeri dei cloni sono specificati nel relativo certificato di analisi/documento di rilascio e sull'etichetta del prodotto) è preparato utilizzando il surnatante di colture di linee cellulari derivate da ibridomi stabilizzati, come inizialmente descritto da Köhler e Milstein (Nature 1975). Questo reagente monoclonale contiene anticorpi IgG/IgM umani ed è stato appositamente selezionato e sviluppato per fornire una alternativa affidabile ai reagenti policlonali. Tale reagente soddisfa ai 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. Il reagente può essere utilizzato in provetta o in micropiastrea. Esso è in grado di rilevare tutti gli antigeni D normali e gran parte degli antigeni D deboli. La variante D categoria VI è rilevata solo in provetta dopo l'aggiunta di siero polispecifico anti-umano. Si raccomanda vivamente l'inclusione di controlli positivi e negativi in ogni serie di determinazioni di gruppo sanguigno.

Precauzioni

Unicamente per uso diagnostico in vitro. Conservare i reagenti a temperature comprese 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). Il reagente non può essere considerato esente 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 metodiche.

Procedura del test

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.

Se non è visibile alcuna reazione di agglutinazione, continuare il test come descritto di seguito:

5. Miscelare accuratamente ed incubare le provette in un bagnomaria a 37 °C per 15-20 minuti.
6. Lavare le cellule con soluzione fisiologica in eccesso. Decantare completamente il liquido in eccesso (un lavaggio è sufficiente ma non ci sono svantaggi nell'effettuare 3-4 lavaggi come nel corso del test convenzionale).
7. Aggiungere due gocce di siero polispecifico contro cellule umane e mescolare accuratamente.
8. Centrifugare a 1000 rcf per 20 secondi o per un tempo appropriato in base alla calibrazione della centrifuga.
9. Risospendere le cellule agitando con attenzione e procedere alla lettura macroscopica dell'agglutinazione.
10. In assenza di agglutinazione visibile aggiungere una goccia di Coombs Control Cells e ripetere le operazioni descritte ai punti 8 e 9. A questo punto la reazione dovrebbe essere positiva. Se il test è ancora negativo il risultato non è valido ed il test deve essere ripetuto.

Metodo in micropiastrea

Requisiti micropiastrea: 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 Rh D. Una reazione positiva, sebbene debole o negativa attraverso l'uso di altre tecniche, indica la presenza di un antigene D debole o parziale e si consiglia l'ulteriore indagine per chiarire lo stato dell'antigene Rh D. Una reazione negativa (es. nessuna agglutinazione visibile) indica l'assenza dell'antigene Rh D.

Frequenza	Caucasici	Neri
Antigene D	85%	92%

Limitazioni

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

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

Le cellule con variazione antigenica possono produrre reazioni positive o negative impreviste con i campioni precedentemente tipizzati con reagenti per la determinazione dei gruppi sanguigni di origine policlonale o di altra origine monoclonale derivata da linee cellulari.

Risultati falsi positivi o falsi negativi possono essere dovuti alla contaminazione dei materiali impiegati per il test o a qualunque deviazione rispetto alla tecnica raccomandata.

Gli eritrociti positivi al test antiglobulina diretto (TAD) producono falsi positivi. Si consiglia l'utilizzo del monoclonale di controllo Pelikloon per la rilevazione dei risultati non validi.

Lavaggi non efficienti degli eritrociti da testare possono essere alla base di falsi negativi a causa della neutralizzazione del siero polispecifico anti-umano da parte delle proteine (IgG) ancora presenti nella provetta.

Gli antisieri monoclonali Pelikloon per la determinazione del gruppo sanguigno sono stati ottimizzati per la(e) tecnica(e) descritta(e) in questo foglietto illustrativo. A meno che diversamente specificato, la sua idoneità in tecniche diverse deve essere determinata dall'utente.

Referenze

1. Race R.R. and Sanger R; Blood Groups in Man, 6th ed. Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975.
2. Issitt P.D.; Applied Blood Group Serology 3rd ed. Montgomery Scientific Publications, Miami, Florida, USA, 1985.
3. Daniels G.; Human Blood Groups. Blackwell Science Ltd. 1995.
4. Reid M.E. et al.; The Blood Group Antigen FactsBook. FactsBook Series, 3rd ed. 2012.
5. Mollison P.L. et al.; Blood Transfusion In Clinical Medicine, 9th ed. Blackwell, Oxford, 1993.

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.