



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

Anti-k (Cellano) Monoclonal: per tecniche antiglobuliniche indirette.

RIEPILOGO

L'antigene k (Cellano) fu descritto nel 1949. L'anti-k è stato associato a reazioni trasfusionali emolitiche e alla malattia emolitica del neonato.

Anti-K	Anti-k	Fenotipo	Caucasici ¹	Neri ¹
+	0	K+k-	0,2%	Raro
+	+	K+k+	8,8%	2%
0	+	K-k+	91,0%	98%

USO PREVISTO

Il reagente per la determinazione del gruppo sanguigno è destinato all'uso per determinare qualitativamente la presenza o l'assenza dell'antigene k (Cellano) sugli eritrociti di donatori di sangue o di pazienti che necessitano di una trasfusione, se analizzati secondo le tecniche raccomandate indicate nelle presenti istruzioni per l'uso.

PRINCIPIO

Il reagente contiene anticorpi diretti contro l'antigene k (Cellano) presente sugli eritrociti umani e provoca agglutinazione indiretta (formazione di aggregati) degli eritrociti umani che esprimono il corrispondente antigene specifico, nella fase antiglobulinica del test. L'assenza di agglutinazione (assenza di aggregati) indica generalmente l'assenza dell'antigene k (Cellano) (vedere **Limitazioni**).

REAGENTI

Questo reagente monoclonale IgG per la determinazione del gruppo sanguigno contiene anticorpi monoclonali umani diluiti in un tampone fosfato contenente cloruro di sodio e albumina bovina. I reagenti non contengono né comprendono sostanze cancerogene, mutagene o reprotossiche (CMR), né sostanze che alterano il sistema endocrino o che potrebbero provocare una sensibilizzazione o una reazione allergica nell'utilizzatore. Il reagente è fornito alla diluizione ottimale per l'uso con tutte le tecniche raccomandate elencate di seguito, senza necessità di ulteriori diluizioni o aggiunte. Per il numero di riferimento del lotto e la data di scadenza vedere l'**etichetta del flaconcino**.

Prodotto	Linea cellulare/Clone
Anti-k (Cellano)	P3A118OL67

CONSERVAZIONE

Non congelare. Conservare i flaconcini di reagente a una temperatura di 2-8 °C dal momento della ricezione. La conservazione prolungata a temperature al di fuori di questo intervallo può comportare una perdita accelerata della reattività del reagente. Questo reagente è stato sottoposto a studi di stabilità durante il trasporto a 37 °C e -25 °C, come descritto nella norma BS EN ISO 23640:2015.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

I campioni di sangue possono essere raccolti in provette con anticoagulante EDTA oppure come campioni coagulati. I campioni devono essere analizzati il prima possibile dopo la raccolta. In caso di ritardo nell'analisi, conservare i campioni a 2-8 °C. I campioni che presentano emolisi evidente o contaminazione microbica non devono essere utilizzati per le analisi. I campioni di sangue che mostrano segni di lisi possono fornire risultati non affidabili. È preferibile (ma non indispensabile) lavare tutti i campioni di sangue con tampone fosfato salino (PBS) o soluzione salina isotonica prima di analizzarli.

PRECAUZIONI

- I reagenti sono destinati esclusivamente all'uso diagnostico *in vitro*.
- Se un flaconcino di reagente mostra crepe o perdite, gettare immediatamente il contenuto.
- Non utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza (vedere l'**etichetta del flaconcino**).
- Non utilizzare i reagenti in presenza di precipitato.
- Durante la manipolazione dei reagenti devono essere indossati indumenti protettivi, quali guanti monouso e camice da laboratorio.
- I reagenti sono stati filtrati attraverso una capsula da 0,2 µm per ridurre la carica biologica, ma non sono forniti sterili. Una volta aperto il flaconcino, il contenuto rimane utilizzabile fino alla data di scadenza, purché non si osservi una torbidità marcata, che può indicare il deterioramento o la contaminazione del reagente.
- I reagenti contengono azoturo di sodio allo 0,1%. L'azoturo di sodio può essere tossico se ingerito e può reagire con tubazioni in piombo e rame formando azoturi metallici esplosivi. Al momento dello smaltimento, far defluire con abbondanti quantità d'acqua.

- I materiali utilizzati per la produzione dei reagenti sono stati testati alla fonte e risultati negativi per anticorpi anti-HIV 1 e 2 e gli anticorpi anti-HCV e HBsAg mediante test microbiologici approvati.
- Nessun test noto può garantire che i prodotti derivati da fonti umane o animali siano privi di agenti infettivi. È necessario prestare attenzione nell'uso e nello smaltimento di ciascun flaconcino e del suo contenuto.

SMALTIMENTO DEL REAGENTE E GESTIONE DELLE FUORIUSCITE

Per informazioni sullo smaltimento dei reagenti e sulla decontaminazione in caso di fuoriuscite, consultare le **Schede di dati di sicurezza**, disponibili su richiesta.

CONTROLLI E RACCOMANDAZIONI

- Un controllo positivo (idealmente cellule eterozigoti) e un controllo negativo devono essere analizzati in parallelo con ogni lotto di test. I test devono essere considerati non validi se i controlli non mostrano i risultati attesi.
- Le tecniche antiglobuliniche possono essere considerate valide solo se tutti i test negativi reagiscono positivamente con gli eritrociti sensibilizzati con IgG.
- Prima dell'uso, lasciare che il reagente raggiunga la temperatura ambiente. Subito dopo aver utilizzato il reagente, stoccarlo nuovamente a una temperatura di 2-8 °C.
- Nella **Tecnica in provetta** un volume corrisponde approssimativamente a 50 µl quando si utilizza il contagocce fornito con il flaconcino.
- L'uso dei reagenti e l'interpretazione dei risultati devono essere effettuati da personale adeguatamente formato e qualificato, in conformità ai requisiti del Paese in cui i reagenti vengono utilizzati.
- L'utilizzatore deve valutare l'idoneità dei reagenti per l'impiego in altre tecniche.

REAGENTI E MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Tecnica in provetta

- Antiglobulina umana, ad es. Lorne AHG Elite (N. cat. 435010 o 415010) oppure anti-IgG umana, ad es. Lorne Anti-Human IgG (N. cat. 402010 o 401010).
- Lavacelle per il test di Coombs.
- Provette in vetro (10 x 75 mm o 12 x 75 mm).
- Soluzione PBS (pH 6,8-7,2) oppure soluzione salina isotonica (pH 6,5-7,5).
- Eritrociti sensibilizzati con IgG, ad es. Lorne Coombs Control Cells (N. cat. 970010).
- Eritrociti di controllo positivo (idealmente eterozigoti) e negativo.
- Bagno termostatico ad acqua o incubatore a secco regolato a 37 °C ± 2 °C.

Tecnica di microtipizzazione Bio-Rad-ID

- ID-card Bio-Rad (LISS/Coombs o Coombs Anti-IgG).
- Centrifuga ID-Centrifuge Bio-Rad.
- ID-CellStab o ID-Diluent 2 Bio-Rad.
- Incubatore ID-Incubator Bio-Rad equilibrato a 37 °C ± 2 °C.

Tecnica di tipizzazione Ortho BioVue

- Cassette Ortho BioVue System (AHG polispecifico o AHG Anti-IgG).
- Centrifuga Ortho BioVue System.
- Blocco riscaldante Ortho BioVue System equilibrato a 37 °C ± 2 °C.
- Ortho 0.8% Red Cell Diluent.

Tutte le tecniche

Pipette volumetriche.

TECNICHE RACCOMANDATE

A. Tecnica antiglobulinica indiretta (IAT)

- Preparare una sospensione di eritrociti al 2-3% in PBS o soluzione salina isotonica.
- In una provetta etichettata, introdurre: 1 volume di reagente Lorne e 1 volume di sospensione di eritrociti.
- Mescolare accuratamente e incubare a 37 °C per 15 minuti.
- Lavare gli eritrociti 1 volta con PBS o soluzione salina isotonica, avendo cura di eliminare completamente il surnatante dopo il lavaggio.
- Aggiungere 2 volumi di antiglobulina umana o anti-IgG a ciascun sedimento essiccato.
- Mescolare accuratamente e centrifugare tutte le provette per 20 secondi a 1000 RCF o per un tempo e una forza alternativi adeguati.
- Risospesare delicatamente il sedimento eritrocitario e procedere alla lettura macroscopica dell'agglutinazione.

- Confermare la validità di tutte le reazioni negative con eritrociti sensibilizzati con IgG.

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 in alluminio dal numero di microprovette necessario sulle ID-Card LISS/Coombs o Coombs Anti-IgG.
- Introdurre nella microprovetta appropriata: 50 µl di sospensione di eritrociti e 25 µl di reagente Lorne.
- Incubare le ID-Card per 15 minuti a 37 °C.
- Centrifugare le ID-Card nella centrifuga ID-Centrifuge Bio-Rad.
- Procedere alla lettura macroscopica per evidenziare l'eventuale agglutinazione.

C. Tecnica di tipizzazione Ortho BioVue

- Preparare una sospensione di eritrociti allo 0,8% in Ortho 0.8% Red Cell Diluent.
- Rimuovere la linguetta in alluminio dal numero di camere di reazione necessario sulle cassette AHG polispecifiche o AHG Anti-IgG.
- Inserire nella camera di reazione appropriata: 50 µl di sospensione di eritrociti e 40 µl di reagente Lorne.
- Incubare la/le cassetta/e per 15 minuti a 37 °C.
- Centrifugare la/le cassetta/e in una centrifuga Ortho BioVue System.
- Procedere alla lettura macroscopica per evidenziare l'eventuale agglutinazione.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI DEL TEST

- Positivo:** l'agglutinazione degli eritrociti costituisce un risultato positivo e, entro i limiti accettati della procedura di test, indica la presenza dell'antigene specifico 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 specifico sugli eritrociti.

STABILITÀ DELLE REAZIONI

- Le fasi di lavaggio devono essere eseguite senza interruzioni e i test devono essere centrifugati e letti immediatamente dopo l'aggiunta del reagente. Eventuali ritardi possono determinare la dissociazione dei complessi antigene-anticorpo, causando risultati falsamente negativi o debolmente positivi.
- È necessario prestare attenzione nell'interpretazione dei risultati di test eseguiti a temperature diverse da quelle **raccomandate**.

LIMITAZIONI

- Gli eritrociti con DAT positivo dovuto a rivestimento con IgG non possono essere tipizzati mediante la **tecnica antiglobulinica indiretta**.
- Un'espressione ridotta o soppressa di alcuni antigeni dei gruppi sanguigni può, al contrario, dare origine a risultati falsamente negativi; pertanto, è sempre necessario prestare cautela nell'assegnare i genotipi sulla base dei risultati del test.
- Risultati falsamente positivi o falsamente negativi possono inoltre verificarsi a causa di:
 - Contaminazione dei materiali di analisi
 - Conservazione non corretta, concentrazione cellulare, tempo o temperatura di incubazione inadeguati
 - Centrifugazione impropria o eccessiva
 - Scostamento dalle tecniche raccomandate

CARATTERISTICHE DI PRESTAZIONE SPECIFICHE

- Prima del rilascio, ciascun lotto di questi reagenti è stato testato utilizzando i metodi raccomandati indicati nelle presenti istruzioni per l'uso. I test sono risultati conformi ai requisiti di analisi stabiliti nell'edizione/versione corrente delle "Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom" (Linee guida per i servizi di trasfusione di sangue nel Regno Unito).
- La specificità degli anticorpi monoclonali di origine è dimostrata mediante l'utilizzo di un pannello di cellule negative per l'antigene.
- 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.

CLAUSOLA DI ESCLUSIONE DI RESPONSABILITÀ

- L'utilizzatore finale è responsabile delle prestazioni dei reagenti quando vengono impiegati con metodi diversi da quelli indicati nelle **Tecniche raccomandate**.
- Qualsiasi scostamento dalle **Tecniche raccomandate** deve essere approvato prima dell'uso⁵.

BIBLIOGRAFIA










- Marion E. Reid e Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 186.
- Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 13.
- AABB Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6th Edition 2002. The Stationary Office.

- 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 DEL REAGENTE

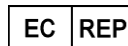
	Formato del flaconcino	Numero di catalogo	Test per flaconcino
Anti-k (Cellano) Monoclonal	2 ml	325002	40

TABELLA DEI SIMBOLI

Simbolo	Definizione	Simbolo	Definizione
	Fabbricante		Numero di catalogo
	Limiti di temperatura		Utilizzare entro AAAA-MM-GG
	Dispositivo medico diagnostico <i>in vitro</i>		Consultare le istruzioni per l'uso.
	Rappresentante autorizzato		Numero di lotto
	Simbolo 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