

REAGENTE MONOCLONALE ANTI-COMPLEMENTO
INDICAZIONI PER L'USO

Anti-C3d Monoclonal: per tecniche dirette in provetta.

RIEPILOGO

In assenza del complemento, la sensibilizzazione e l'agglutinazione da parte di un anticorpo sarebbero incomplete e inefficaci. Le proteine del sistema del complemento costituiscono un sistema altamente complesso che coinvolge ben 24 entità chimicamente e biologicamente distinte.

USO PREVISTO

Questo reagente per la determinazione del gruppo sanguigno è destinato all'uso per rilevare qualitativamente la presenza o l'assenza dei fattori del complemento C3d e C3b sugli eritrociti umani, quando testato secondo le tecniche raccomandate indicate nelle presenti istruzioni per l'uso.

PRINCIPIO

Il reagente contiene anticorpi diretti contro i fattori del complemento C3 (C3d e C3b) sugli eritrociti umani e provoca agglutinazione diretta (formazione di aggregati) degli eritrociti sensibilizzati con i fattori del complemento C3 (C3d e C3b). L'assenza di agglutinazione indica generalmente l'assenza dei fattori del complemento C3 (C3d e C3b) sugli eritrociti umani (vedere **Limitazioni**).

REAGENTE

Il reagente monoclonale Lorne IgM anti-C3d per la determinazione del gruppo sanguigno contiene anticorpi monoclonali murini anti-C3d, clone BRIC-8. Il reagente non contiene né è composto da sostanze cancerogene, mutagene o reprotossiche (CMR), né da sostanze che alterano il sistema endocrino o che potrebbero provocare una sensibilizzazione o una reazione allergica nell'utilizzatore. Il reagente è fornito a una 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**.

CONSERVAZIONE

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

1. Il reagente è destinato esclusivamente all'uso diagnostico in vitro.
2. Se un flaconcino di reagente mostra crepe o perdite, gettare immediatamente il contenuto.
3. Non utilizzare il reagente oltre la data di scadenza (vedere **l'etichetta del flaconcino**).
4. Non utilizzare il reagente in presenza di precipitato.
5. Durante la manipolazione dei reagenti devono essere indossati indumenti protettivi, quali guanti monouso e camicie da laboratorio.
6. Il reagente è stato filtrato attraverso una capsula da 0,2 µm per ridurre la carica biologica, ma non è fornito sterile. 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.
7. Il reagente contiene < 0,1% di azoturo di sodio. 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.
8. I materiali utilizzati per la produzione del reagente 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.
9. 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 del reagente e sulla decontaminazione in caso di fuoriuscite, consultare le **Schede di dati di sicurezza**, disponibili su richiesta.

CONTROLLI E RACCOMANDAZIONI

1. Un controllo positivo (cellule rivestite con C3d e C3b) e un controllo negativo devono essere analizzati in parallelo con ogni serie di test. I test devono essere considerati non validi se i controlli non mostrano i risultati attesi.
2. 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.
3. Nelle **Tecniche raccomandate** un volume corrisponde approssimativamente a 50 µl quando si utilizza il contagocce fornito con il flaconcino.
4. L'uso del reagente 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.
5. L'utilizzatore finale deve valutare l'idoneità del reagente per l'impiego in altre tecniche.

REAGENTI E MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

- 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).
- Cellule di controllo positivo (rivestite con C3d e C3b) e negativo.
- Centrifuga in grado di ruotare a 1000 g per 20 secondi.
- Pipette volumetriche.

TECNICA RACCOMANDATA

A. Tecnica antiglobulinica diretta (DAT)

1. Lavare 1 volume di eritrociti (sospensione al 2-3% in PBS o soluzione fisiologica isotonica) per 4 volte con PBS o soluzione salina isotonica, avendo cura di eliminare il surnatante tra un lavaggio e l'altro e di risospendere ogni sedimento dopo ciascun lavaggio. Eliminare completamente il surnatante dopo l'ultimo lavaggio.
2. Aggiungere 2 volumi di Lorne Anti-C3d a ciascun sedimento essiccato.
3. Mescolare accuratamente e centrifugare tutte le provette per 20 secondi a 1000 RCF o per un tempo e una forza alternativi adeguati.
4. Risospendere delicatamente il sedimento eritrocitario e procedere alla lettura macroscopica dell'agglutinazione.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI DEL TEST

1. **Positivo:** l'agglutinazione degli eritrociti costituisce un risultato positivo e, entro i limiti accettati della procedura di test, indica la presenza del complemento (C3d e/o C3b) 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 del complemento (C3d e/o C3b) sugli eritrociti.

STABILITÀ DELLE REAZIONI

1. 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.
2. È necessario prestare attenzione nell'interpretazione dei risultati di test eseguiti a temperature diverse da quelle **raccomandate**.

LIMITAZIONI

1. Un lavaggio inadeguato degli eritrociti può determinare la neutralizzazione del reagente.
2. Al termine della fase di lavaggio, un eccesso di soluzione fisiologica residua può diluire il reagente Anti-C3d, riducendone la potenza.
3. Risultati positivi al test diretto dell'antiglobulina dovuti a sensibilizzazione da complemento possono non riflettere una fissazione del complemento *in vivo* se le cellule testate provengono da un campione di sangue coagulato precedentemente refrigerato.
4. Un risultato negativo al test diretto dell'antiglobulina non esclude necessariamente la diagnosi clinica di malattia emolitica del neonato da incompatibilità ABO o di anemia emolitica autoimmune. Non esclude inoltre necessariamente la malattia emolitica del neonato (HDN), in particolare se si sospetta incompatibilità ABO.
5. Risultati falsamente positivi o falsamente negativi possono inoltre verificarsi a causa di:

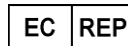
Contaminazione dei materiali di analisi
Conservazione non corretta, concentrazione cellulare, tempo o temperatura di incubazione inadeguati
Centrifugazione impropria o eccessiva



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

CARATTERISTICHE DI PRESTAZIONE SPECIFICHE

1. 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).
2. La potenza dell'anti-C3d è stata testata rispetto al seguente standard di riferimento minimo di potenza ottenuto dal National Institute of Biological Standards and Controls (NIBSC):
 - Standard di riferimento anti-AHG 96/666
3. La potenza dell'anti-C3d è dimostrata mediante test che impiegano cellule rivestite con C3.
4. La presenza di agglutinine eterospecifiche contaminanti o di anticorpi anti-C4d è stata esclusa mediante test condotti su eritrociti di tutti i gruppi ABO e su cellule rivestite con C4d.
5. 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.



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

CLAUSOLA DI ESCLUSIONE DI RESPONSABILITÀ

1. L'utilizzatore finale è responsabile delle prestazioni del reagente quando viene impiegato con metodi diversi da quelli indicati nella **Tecnica raccomandata**.
2. Qualsiasi scostamento dalla **Tecnica raccomandata** deve essere approvato prima dell'uso.⁶

BIBLIOGRAFIA

1. Voak D, Downie DM, Moore BPL, e Engelfreit CP. Anti-Human Globulin reagent specification. The European and ISBT/ICSH View. Biotest Bulletin 1: 7-22 (1986).
2. The Department of Health and Social Security. Health Services Management Antiglobulin Test. False negative results, HN (Hazard) (83) 625 Nov 1983.
3. Bruce M, Watt AH, Hare W, Blue A, Mitchell R. A serious source of error in antiglobulin testing. Transfusion 1986; **26**: 177-181.
4. Voak D, Downie DM, Moore BPL, Ford DS, Engelfreit CP, Case J. Replicate tests for the detection and correction of errors in anti-human globulin (AHG) tests: optimum conditions and quality control. Haematologia 1988; **21**(1): 3-16.
5. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6th Edition 2002. The Stationary Office.
6. 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
2 ml	427002	20

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 con verifica da parte di un Organismo notificato		