

ALBUMINA SIERICA
ISTRUZIONI PER L'USO

22% e 30% Serological Albumin

RIEPILOGO

L'albumina sierologica è stata riconosciuta per la prima volta come potenziatore di alcune interazioni antigene-anticorpo nel 1945 da Diamond. Da allora, i metodi che ricorrono all'albumina sierica sono stati ampiamente utilizzati per l'individuazione o la quantizzazione degli anticorpi. È stato inoltre dimostrato che l'albumina sierica potenzia la sensibilità del test dell'antiglobulina indiretta per alcune specificità anticorpali.

USO PREVISTO

Le soluzioni di albumina sierica sono destinate ad essere utilizzate per potenziare l'individuazione qualitativa di anticorpi anti-eritrocitari irregolari nel plasma o nel siero umano, se analizzati secondo le tecniche raccomandate indicate nelle presenti istruzioni per l'uso.

PRINCIPIO

Se utilizzato secondo le tecniche raccomandate, il reagente non influisce sulla prima fase dell'emoagglutinazione (adesione degli anticorpi), tuttavia potenzia la seconda fase (agglutinazione) consentendo agli eritrociti rivestiti di anticorpi di avvicinarsi più di quanto non farebbero in un mezzo salino senza additivi (vedere **Limitazioni**).

REAGENTI

Lorne 22% e 30% Serological Albumin sono preparati a partire da una miscela di albumina sierica bovina (BSA) e una soluzione salina. Nessun preparato BSA contiene amplificatori di avidità né potenziatori dell'agglutinazione ad elevato peso molecolare artificiali aggiunti. Nessun reagente BSA contiene sodio caprilato. I reagenti non contengono né comprendono sostanze CMR, o sostanze che alterano il sistema endocrino o che potrebbero provocare una sensibilizzazione o una reazione allergica nell'utilizzatore. Ogni reagente BSA viene fornito alla diluizione ottimale per l'uso con tutte le tecniche raccomandate indicate di seguito senza la necessità di ulteriori diluizioni o aggiunte. Per il numero di riferimento del lotto e la data di scadenza vedere **Etichette delle fiale**.

CONSERVAZIONE

Conservare le fiale di reagente a 2-8°C dal momento della ricezione. La conservazione prolungata a temperature al di fuori di questo intervallo può provocare una perdita accelerata della reattività del reagente. Questo reagente è stato sottoposto a studi di stabilità al 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 in anticoagulanti EDTA, citrato, CPDA o come campione coagulato. Analizzare i campioni il prima possibile dopo aver effettuato la raccolta. In caso di ritardo nei test, conservare i campioni a 2-8°C. I campioni che presentano evidente emolisi o contaminazione microbica non devono essere utilizzati per i test. 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

1. I reagenti sono destinati esclusivamente all'uso diagnostico *in vitro*.
2. Se una fiala di reagente presenta crepe o perdite, gettare via il contenuto immediatamente.
3. Non usare i reagenti dopo la data di scadenza (vedere **Etichetta della fiala**).
4. Non usare i reagenti se è presente un precipitato.
5. Quando si maneggiano i reagenti, indossare indumenti protettivi quali guanti monouso e un camice da laboratorio.
6. I reagenti sono stati filtrati attraverso una capsula da 0,2 µm per ridurre la carica batterica, ma non vengono forniti sterili. Dopo l'apertura di una fiala, il contenuto rimane vitale fino alla data di scadenza, a condizione che non vi sia una torbidità marcata, che può indicare il deterioramento o la contaminazione del reagente.
7. La BSA è stata ottenuta nel 1980 da una mandria chiusa nella linea femminile, in cui per nessun animale vi erano sospetti clinici di Encefalopatia spongiforme bovina (BSE), e dove per l'alimentazione non sono state usate razioni contenenti proteine derivate da ruminanti durante quel periodo.
8. Il reagente contiene <0,1% di azoturo di sodio. L'azoturo di sodio può risultare tossico se ingerito e può reagire con le tubature in piombo o rame fino a formare azoturi metallici esplosivi. Per lo smaltimento sciacquare con grandi volumi di acqua.

SMALTIMENTO DEL REAGENTE E GESTIONE DELLE FUORIUSCITE

Per informazioni sullo smaltimento dei reagenti e sulla decontaminazione di un sito di fuoriuscita, vedere le **Schede di dati di sicurezza dei materiali**, disponibili su richiesta.

CONTROLLI E CONSIGLI

1. Gli eritrociti sensibilizzati con un autoanticorpo *in vitro* o *in vivo* possono agglutinare spontaneamente in concentrazioni di albumina sierica fino al 6%. È quindi essenziale predisporre test di controllo di routine in cui gli eritrociti per il test siano miscelati solamente con la soluzione di albumina sierica appropriata.
2. Le tecniche dell'antiglobulina possono essere considerate valide solo se tutti i test negativi reagiscono positivamente con gli eritrociti sensibilizzati con IgG.
3. Nelle **Tecniche raccomandate** un volume è di circa 50µl se si usa la fiala contagocce fornita.
4. Prima dell'uso, far riscaldare il reagente fino a temperatura ambiente. Dopo aver utilizzato il reagente, riportarlo nel luogo di conservazione a 2-8°C.
5. L'uso dei reagenti e l'interpretazione dei risultati devono essere eseguiti da personale adeguatamente formato e qualificato in conformità ai requisiti del paese in cui i reagenti sono in uso.
6. L'utilizzatore deve stabilire l'idoneità dei reagenti per l'uso in altre tecniche.

REAGENTI E MATERIALI NECESSARI

- Antiglobuline umane, ovvero Lorne Polyspecific AHG Elite (Cat # 435010) o Anti-IgG umane, ovvero Lorne Monospecific Anti-IgG (Cat # 401010).
- Sistema di lavaggio per cellule Coombs.
- Provette in vetro (10 x 75 mm o 12 x 75 mm).
- Centrifuga per provette.
- Eritrociti sensibilizzati con IgG, ovvero Lorne Coombs Control Cells (Cat # 970010).
- Lorne Inert AB serum (Cat # 110010).
- Soluzione di PBS (pH 6.8-7.2) o soluzione salina isotonica (pH 6.5-7.5).
- Pipette volumetriche.
- Bagno d'acqua o incubatore di calore a secco equilibrato a 37°C ± 2°C.

TECNICHE RACCOMANDATE

A. Tecnica di centrifugazione immediata dell'albumina

1. Preparare una sospensione di eritrociti per test lavati al 2-3% in PBS o soluzione salina isotonica.
2. Inserire in una provetta etichettata: 2 volumi ciascuno di siero per test, sospensione di eritrociti per test e 22% Serological Albumin.
3. Miscelare accuratamente e centrifugare tutte le provette per 20 secondi a 1000 rcf o per un tempo e una forza alternativi adeguati.
4. Esaminare il surnatante per l'emolisi, quindi risospendere delicatamente il sedimento e procedere alla lettura macroscopica dell'agglutinazione.

B. Tecnica dell'albumina con fase della soluzione salina a temperatura ambiente

1. Preparare una sospensione di eritrociti per test lavati al 2-3% in PBS o soluzione salina isotonica.
2. Inserire in una provetta etichettata: 2 volumi di siero per test, 1 volume di sospensione di eritrociti per test e 2 volumi di 22% Serological Albumin.
3. Miscelare accuratamente e incubare a 18-25 °C per 5-30 minuti.
4. Centrifugare tutte le provette per 20 secondi a 1000 rcf o per un tempo e una forza alternativi adeguati.
5. Esaminare il surnatante per l'emolisi, quindi risospendere delicatamente il sedimento e procedere alla lettura macroscopica dell'agglutinazione.

C. Tecnica dell'albumina a 37°C

1. Preparare una sospensione di eritrociti per test lavati al 2-3% in PBS o soluzione salina isotonica.
2. Inserire in una provetta etichettata: 2 volumi di siero per test, 1 volume di sospensione di eritrociti per test e 2 volumi di 22% Serological Albumin.
3. Miscelare accuratamente e incubare a 37 °C per 15-60 minuti.
4. Centrifugare tutte le provette per 20 secondi a 1000 rcf o per un tempo e una forza alternativi adeguati.
5. Esaminare il surnatante per l'emolisi, quindi risospendere delicatamente il sedimento e procedere alla lettura macroscopica dell'agglutinazione.

D. Tecnica dell'antiglobulina indiretta (IAT)

1. Seguire i passaggi da 1 a 3 della Tecnica dell'albumina 37°C descritti sopra.
2. Lavare gli eritrociti per test 4 volte con PBS o soluzione salina isotonica, avendo cura di travasare la soluzione salina tra un lavaggio e l'altro e risospendere ciascun sedimento dopo ogni lavaggio. Travasare completamente la soluzione salina dopo l'ultimo lavaggio.
3. Aggiungere 2 volumi di antiglobuline umane per ciascun sedimento secco.

- Miscelare accuratamente e centrifugare tutte le provette per 20 secondi a 1000 rcf o per un tempo e una forza alternativi adeguati.
- Risospingere delicatamente il sedimento eritrocitario e procedere alla lettura macroscopica dell'agglutinazione

E. Tecnica della titolazione anticorpale

- Preparare una sospensione di eritrociti per test lavati al 2-3% in Lorne 22% Serological Albumin.
- Preparare diluizioni doppie di siero per test in siero AB inerte.
- Aggiungere 1 volume di sospensione di eritrociti per test a 1 volume di ciascuna diluizione.
- Miscelare accuratamente e incubare a 37°C per 15-60 minuti.
- Centrifugare tutte le provette per 20 secondi a 1000 rcf o per un tempo e una forza alternativi adeguati.
- Risospingere delicatamente il sedimento e procedere alla lettura macroscopica dell'agglutinazione.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI DEL TEST

- Positivo:** L'agglutinazione degli eritrociti per test costituisce un risultato positivo del test entro i limiti accettati della procedura di test.
- Negativo:** L'assenza di agglutinazione degli eritrociti per test costituisce un risultato negativo entro i limiti accettati della procedura di test.

STABILITÀ DELLE REAZIONI

- Effettuare la lettura dei test in provetta immediatamente dopo la centrifugazione.
- Completare le fasi di lavaggio senza interruzioni e centrifugare e leggere i test immediatamente dopo l'aggiunta dell'antiglobulina umana. Eventuali ritardi possono causare la dissociazione dei complessi antigene-anticorpo con conseguenti reazioni false negative o deboli positive.
- Occorre prestare attenzione nell'interpretazione dei risultati dei test effettuati a temperature diverse da quelle **raccomandate**.

LIMITAZIONI

- Gli eritrociti con DAT positivo dovuto a un rivestimento di IgG non possono essere tipizzati mediante la tecnica dell'antiglobulina indiretta.
- Possono verificarsi risultati falsi positivi dovuti alla presenza di agglutinine nell'albumina in una piccola percentuale di campioni di siero.
- Occorre controllare l'efficacia del reagente di albumina durante tutto l'utilizzo.
- Serological Albumin non amplificherà la reattività di tutti gli anticorpi del gruppo sanguigno.
- Non usare Serological Albumin come controllo negativo per i reagenti potenziati per la determinazione del gruppo sanguigno IgG.
- I risultati falsi positivi o falsi negativi possono verificarsi a causa di:
 - Contaminazione dei materiali dei test
 - Errata concentrazione cellulare, tempo o temperatura di incubazione
 - Errata o eccessiva centrifugazione
 - Errata conservazione dei materiali dei test o omissione del reagente
 - Introduzione di siero/gamma globuline umane nel test

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI SPECIFICHE

- Prima del rilascio, ogni lotto di soluzione Lorne Serological Albumin è stato testato con i metodi di analisi raccomandati elencati nelle presenti istruzioni per l'uso. I test sono risultati conformi ai requisiti di analisi indicati nella versione/edizione attuale delle "Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom" ("Linee guida per i servizi di trasfusione di sangue nel Regno Unito").
- Prima del rilascio, ogni lotto di Lorne 22% e 30% Serological Albumin ha dimostrato di potenziare l'agglutinazione degli anticorpi Rh e di altro tipo se utilizzato secondo le **Tecniche raccomandate**.
- Ogni lotto è testato per assicurare la specificità in un sistema privo di anticorpi con eritrociti noti per possedere gli antigeni del gruppo sanguigno ereditati più frequentemente.
- Il Controllo qualità dei reagenti è stato effettuato utilizzando eritrociti con fenotipi verificati da un centro trasfusionale britannico e lavati con PBS o soluzione salina isotonica prima dell'uso.
- I reagenti sono conformi alle raccomandazioni contenute nell'edizione più recente delle Linee guida per i servizi di trasfusione di sangue nel Regno Unito.

DICHIARAZIONE DI NON RESPONSABILITÀ

- L'utilizzatore è responsabile delle prestazioni dei reagenti con qualsiasi metodo diverso da quelli indicati nelle **Tecniche raccomandate**.
- Qualsiasi scostamento dalle **Tecniche raccomandate** deve essere approvato prima dell'uso⁴.

BIBLIOGRAFIA

- Technical Manual, 16th Edition. American Association of Blood Banks, Bethesda, MD, 2008; Chapter 15.
- Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 3.
- 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.

DIMENSIONI DEI REAGENTI DISPONIBILI

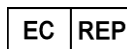
	Dimensione fiala	Numero catalogo	Test per fiala
22% Serological Albumin	10 ml	451010	100
	1000 ml	451000*	10.000
30% Serological Albumin	10 ml	452010	100
	1000 ml	452000*	10.000

*Queste dimensioni sono esclusivamente per uso successivo (FFMU), e pertanto non sono dotate di marchio 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