

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	
A₁ reagent red cells	REF K 1140	IVD CE 0344
B reagent red cells	REF K 1142	IVD CE 0344
O positive reagent red cells	REF K 1143	IVD CE
O negative reagent red cells	REF K 1144	IVD CE
A₂ reagent red cells	REF K 1141	IVD CE
080_v02 01/2017 (it)	Solo per uso professionale	

Sospensione cellulare al 3% utilizzata per la rivelazione di alloanticorpi anti-A e anti-B (reagente eritrociti A₁ e B) e come controllo positivo o negativo (reagente eritrociti O positivi, O negativi e A₂)

Informazioni generali

Gli eritrociti sono risospesi in un terreno di conservazione. 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. Gli eritrociti possono essere utilizzati in provetta o su micropiastra. Tale reagente, inoltre, può essere utilizzato anche con sistemi automatici e deve essere standardizzato e convalidato dall'utente. Si raccomanda vivamente l'inclusione di controlli positivi e negativi in ogni serie di determinazioni di gruppo sanguigno. Quando si determina la presenza o l'assenza di alloanticorpi anti-A e anti-B nel siero o plasma di un paziente si raccomanda di testare le cellule del paziente anche per la presenza degli antigeni corrispondenti A e/o B, utilizzando i reagenti Pelikloon anti-A, anti-B e anti-A,B (IgM) monoclonal (vedere il relativo foglietto illustrativo).

Avvertenze

Unicamente per uso diagnostico in vitro. Conservare il reagente a temperature comprese tra 2–8°C; non congelare. Non utilizzare flaconcini danneggiati o non sigillati. Non utilizzare il reagente (aperto o non aperto) oltre la data di scadenza riportata sull'etichetta del flaconcino. Come conservanti sono utilizzati Clooramfenicolo 0,025%, neomicina solfato 0,01% e gentamicina 0,005%. Sebbene tutti i prodotti ematici siano analizzati per le malattie infettive, 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. Non utilizzare il prodotto in caso di contaminazione o evidente emolisi. Per individuare il deterioramento del reagente eritrociti, 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.

Metodiche

Metodo in provetta

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

1. Introdurre in una provetta:
 - 2 gocce di siero o plasma da analizzare
 - 1 goccia di sospensione al 3% del reagente eritrociti e mescolare accuratamente.
2. Centrifugare a 1000 rcf per 20 secondi o per un tempo appropriato in base alla calibrazione della centrifuga.
3. 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. Introdurre in un pozzetto:
 - 2 gocce di siero o plasma da analizzare
 - 1 goccia di sospensione al 3% del reagente eritrociti.
2. Miscelare accuratamente il contenuto per 5 secondi utilizzando un agitatore per micropiastre a 600–700 giri / min.
3. Incubare per 10–15 minuti a temperatura ambiente (18–25°C) senza agitare.
4. Centrifugare a 700 rcf per 10–20 secondi o per un tempo appropriato in base alla calibrazione della centrifuga.
5. 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.
6. Lasciare la micropiastra a riposo per 1 minuto per fare sedimentare gli agglutinati deboli.
7. 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'alloanticorpo corrispondente. Una reazione negativa (es. nessuna agglutinazione visibile) indica l'assenza dell'alloanticorpo 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 + eritrocito			siero / plasma + eritrociti test		
anti-A	anti-B	anti-A,B	cellule A ₁	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

(Determinazione del gruppo ABO)

Risultati positivi imprevisti dovuti a: pseudoagglutinazione, presenza di alloanticorpi diversi da anti-A e/o anti-B. Risultati negativi o deboli dovuti a: ridotta attività del reagente eritrociti nel caso in cui il siero o il plasma da analizzare appartengano ad un neonato, una persona (molto) anziana o ad una persona affetta da ipogammaglobulinemia o chimerismo.

Bibliografia

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. and Lomas-Francis C.; The Blood Group Antigen Facts Book. Facts Book Series, 1997.
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.