



REAGENTE PER LA DETERMINAZIONE DEL GRUPPO SANGUIGNO

Anti-Fy^a ALBAclone® (Monoclonale umano-murino) Per l'uso in provetta



LEGENDA DEI SIMBOLI IN ETICHETTA

| | |
|--|--|
| | Lotto |
| | Data di scadenza (AAAA-MM-GG) |
| | Codice prodotto |
| | Limiti temperatura di conservazione (2-8 °C) |
| | Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i> |
| | Consultare le istruzioni per l'uso |
| | Produttore |

USO PREVISTO

Questo reagente anti-Fy^a è destinato al rilevamento e all'identificazione *in vitro* mediante agglutinazione indiretta dell'antigene del gruppo sanguigno umano Fy^a.

RIEPILOGO E SPIEGAZIONE

L'anti-Fy^a e l'anti-Fy^b sono stati descritti rispettivamente nel 1950 e nel 1951. Fy^aA e Fy^bB sono una coppia di alleli che si trovano sul braccio lungo del cromosoma 1 e sono all'origine di tre fenotipi comuni: Fy(a+b-), Fy(a+b+) e Fy(a-b+). Gli antigeni Fy^a e Fy^b vengono degradati trattando gli eritrociti con concentrazioni adeguate degli enzimi proteolitici ficina, papaina e α-chimotripsina.

PRINCIPIO DEL TEST

Se utilizzato per eseguire il test con la tecnica consigliata, questo reagente provoca l'agglutinazione (agglomerazione) degli eritrociti portatori dell'antigene Fy^a. L'assenza di agglutinazione dimostra l'assenza dell'antigene Fy^a.

DESCRIZIONE DEL REAGENTE

La componente principale di questo reagente è ricavata dalla coltura *in vitro* di eteroidridoma umano-murino secernente IgG.

| Nome del prodotto | Codice prodotto | Linea cellulare |
|----------------------|-----------------|-----------------|
| Anti-Fy ^a | Z152 | DG-FYA-02 |

La formulazione contiene anche materiale di origine bovina, potenziatori e azoturo di sodio (< 0,1% p/v).

NOTA: il volume di liquido erogato dal flacone contagocce del reagente è di circa 40 µL. Prestare attenzione e assicurarsi che in tutti i sistemi di test sia mantenuta la proporzione corretta tra siero e cellule.

Questo reagente soddisfa le specifiche tecniche comuni per i prodotti definiti nell'Allegato II, Elenco B della Direttiva 98/79/CE relativa ai dispositivi medico-diagnostici *in vitro* e alle raccomandazioni contenute nelle Guidelines for Blood Transfusion Services in the United Kingdom (Linee guida per i servizi trasfusionali nel Regno Unito).

CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE

Il reagente deve essere conservato a 2-8 °C.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Esclusivamente per uso diagnostico *in vitro*. I prodotti devono essere utilizzati esclusivamente da personale qualificato.

Non utilizzare dopo la data di scadenza.

Non usare se torbido.

Non diluire.

La data di scadenza è specificata nel formato AAAA-MM-GG (anno-mese-giorno)

Questo reagente contiene azoturo di sodio (< 0,1% p/v). L'azoturo di sodio può essere tossico se ingerito e può reagire con il rame e il piombo delle tubazioni di scarico formando composti esplosivi. In caso di smaltimento in un lavandino, far scorrere un volume elevato di acqua corrente per evitare l'accumulo dell'azoturo.

Questo reagente è di origine umana/animale (murina e bovina), occorre dunque prestare attenzione durante l'utilizzo e lo smaltimento del prodotto poiché comporta il rischio potenziale di infezione.

ATTENZIONE: IL MATERIALE DI PARTENZA DA CUI QUESTO PRODOTTO È STATO RICAVATO È RISULTATO NON REATTIVO PER HBsAg, anti-HIV 1/2 E anti-HCV. NESSUN METODO DI TEST NOTO PUÒ GARANTIRE COMPLETAMENTE CHE UN PRODOTTO DERIVATO DA SANGUE UMANO NON TRASMETTA MALATTIE INFETTIVE. OCCORRE PRENDERE LE PRECAUZIONI NECESSARIE NELL'UTILIZZO E NELLO SMALTIMENTO DI QUESTO PRODOTTO. I MATERIALI DI PARTENZA POSSONO COMPRENDERE COMPONENTI DI ORIGINE UMANA E CELLULE PRODUTTRICI DI ANTICORPI UTILIZZATE NELLA PRODUZIONE DI PRODOTTI POLICLONALI E MONOCLONALI.

Gli anticorpi monoclonali hanno potenza, avidità e specificità elevate. Quando si utilizzano anticorpi di questo tipo occorre prestare attenzione a evitare contaminazioni crociate. Alcune parti (contagocce o pipetta) di questo prodotto contengono gomma naturale essiccata.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

I campioni devono essere prelevati con una tecnica di raccolta standard. Dopo la raccolta il campione deve essere testato il prima possibile. Se il test del campione viene rimandato è necessario refrigerare il campione per conservarlo.

I campioni coagulati o quelli raccolti in provette con anticoagulante (EDTA) devono essere testati entro quattordici giorni dalla raccolta. Il sangue di donatori raccolto in provette con ACD, CPD, CPDA-1, CP2D, CP2D con AS-3, CPD con AS-1, e CPD con AS-5 può essere testato fino alla data di scadenza della donazione.

Occorre prestare particolare attenzione nel caso sia necessario testare campioni emolisi. Non utilizzare campioni di sangue palesemente itterici o contaminati.

MATERIALI

Materiale fornito

- ALBAclone® Anti-Fy^a

Materiali necessari ma non inclusi

- Tampone fosfato isotonic (PBS) con pH 7.0 ± 0.2
- Soluzione a bassa forza ionica (LISS)
- Reagente eritrocitario adatto al controllo dell'anti-Fy^a
- Antiglobulina umana polispecifica/anti-IgG umana monospecifica
- Eritrociti sensibilizzati per IgG
- Provette in vetro da 10 x 75 mm o 12 x 75 mm
- Pipette
- Centrifuga
- Timer
- Blocco/bagno riscaldante

PROCEDURE

NOTA: questo reagente è stato standardizzato per essere utilizzato con le tecniche descritte di seguito e non è quindi possibile garantirne l'adeguatezza in caso di utilizzo con altre tecniche. Se è necessario incubare un test per un determinato periodo di tempo, utilizzare un timer.

Quando si utilizzano apparecchiature supplementari per il test (per esempio una centrifuga) seguire le procedure contenute nel manuale dell'operatore fornito dal produttore del dispositivo.

In provetta: test indiretto dell'antiglobulina umana

1. Preparare una sospensione di eritrociti al 2-3% in PBS con pH 7.0 ± 0.2 (il reagente eritrocitario può essere utilizzato direttamente dal flacone o secondo le istruzioni del produttore) oppure all'1,5-2% in LISS.
2. Aggiungere 1 goccia di reagente per la determinazione del gruppo sanguigno in una provetta di vetro.
3. Aggiungere 1 goccia della sospensione di eritrociti. I punti 2 e 3 possono essere eseguiti in qualunque ordine.
4. Miscelare il contenuto della provetta e incubare a 37 ± 1 °C per 15 minuti.
5. Lavare 3-4 volte utilizzando una grande quantità di PBS con pH 7.0 ± 0.2 (per es. 4 mL di PBS per una provetta di vetro da 10 (o 12) × 75 mm).

NOTA: (i) utilizzare un tempo di rotazione adeguato per la sedimentazione degli eritrociti.

(ii) assicurarsi di rimuovere il PBS al termine di ciascun lavaggio.

6. Aggiungere 2 gocce di reagente per il test dell'antiglobulina umana in ciascuna provetta.
7. Miscelare il contenuto della provetta e centrifugare.
NOTA: centrifugazione consigliata: 900-1000 g (circa 3400 rpm) per 10 secondi oppure un tempo e una velocità adatti alla centrifuga utilizzata e tali da massimizzare la forza della reazione tra anticorpi ed eritrociti positivi per l'antigene ma permettere comunque di risospendere facilmente gli eritrociti negativi per l'antigene.
8. Dopo la centrifugazione agitare delicatamente la provetta per staccare le cellule sedimentate sul fondo e verificare immediatamente la presenza di agglutinazione a livello macroscopico.
9. Registrare i risultati.

10. La validità di tutti i test negativi deve essere confermata utilizzando un reagente con eritrociti sensibilizzati per IgG.

- a) Aggiungere 1 goccia di reagente con eritrociti sensibilizzati per IgG a ciascun test dell'antiglobulina negativo.
- b) Miscelare bene il contenuto della provetta e centrifugare.

NOTA: centrifugazione consigliata: 900-1000 g (circa 3400 rpm) per 10 secondi oppure un tempo e una velocità adatti alla centrifuga utilizzata e tali da massimizzare la forza della reazione tra anticorpi ed eritrociti positivi per l'antigene ma permettere comunque di risospendere facilmente gli eritrociti negativi per l'antigene.

- c) Dopo la centrifugazione agitare delicatamente la provetta per staccare le cellule sedimentate sul fondo e verificare immediatamente la presenza di agglutinazione a livello macroscopico.
- d) Qualunque test che non mostri una reazione positiva deve essere considerato non valido e ripetuto.

STABILITÀ DELLA REAZIONE

I risultati dei test devono essere letti, interpretati e registrati immediatamente dopo la centrifugazione. Eventuali ritardi possono provocare la dissociazione dei complessi antigene-

anticorpo e dare luogo a reazioni positive deboli oppure falsi negativi.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Agglutinazione = risultato del test positivo

Assenza di agglutinazione = risultato del test negativo

CONTROLLO DELLA QUALITÀ

Il controllo della qualità dei reagenti è essenziale e deve essere eseguito il giorno dell'utilizzo.

Gli eritrociti Fy(a+b+) devono essere utilizzati come controllo positivo; gli eritrociti Fy(a+b-) devono essere utilizzati come controllo negativo.

Tutti i test dell'antiglobulina negativi devono essere controllati utilizzando un reagente con eritrociti sensibilizzati per IgG. Un risultato positivo indica la presenza di anti-IgG attiva. I test per cui questa procedura dà risultati negativi devono essere considerati non validi e, se necessario, ripetuti.

LIMITAZIONI

Eventuali residui di PBS presenti dopo il completamento della fase di lavaggio possono diluire il reagente per il test dell'antiglobulina umana oltre la concentrazione di lavoro ideale. È quindi importante assicurarsi di rimuovere la maggior quantità possibile di soluzione di lavaggio dopo ogni fase della centrifugazione.

Gli eritrociti che risultano positivi al test diretto dell'antiglobulina non devono essere testati utilizzando il test indiretto dell'antiglobulina umana.

I blocchi e i bagni di riscaldamento favoriscono una migliore trasmissione del calore e sono consigliati per i test a 37 °C, in particolare quando il periodo di incubazione è pari o inferiore a 30 minuti.

La forza dell'espressione di alcuni antigeni eritrocitari può ridursi durante la conservazione, in particolare nei campioni coagulati o in provette con anticoagulante (EDTA). Con campioni appena raccolti è possibile ottenere risultati migliori.

Risospendere delicatamente i test in provetta prima della lettura. Un movimento eccessivo può compromettere un'agglutinazione debole e dare origine a falsi negativi.

Una centrifugazione eccessiva può rendere più difficoltosa la risospensione delle cellule sedimentate, mentre una centrifugazione inadeguata può produrre agglutinati che si disperdono facilmente.

Eventuali risultati falsi positivi e falsi negativi possono essere dovuti a contaminazione dei materiali per il test, temperatura di reazione errata, conservazione dei materiali inadeguata, omissione di reagenti per il test e presenza di alcuni stati patologici.

L'espressione ridotta o soppressa degli antigeni del gruppo sanguigno può provocare reazioni che portano a falsi negativi.

CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI SPECIFICHE

Prima della distribuzione ogni lotto di ALBAclone® Anti-Fy^a viene testato, utilizzando i metodi raccomandati, con un panel di eritrociti positivi e negativi per l'antigene, per garantire una reattività adeguata.

Risultati di studi comparativi

Durante alcuni studi comparativi (dati in archivio presso Alba Bioscience Limited) alcuni campioni di sangue sono stati testati con ALBAclone® Anti-Fy^a come segue:

| Anti-Fy ^a | Reagente di riferimento/sperimentale | Reagente di confronto | | | | Totale |
|---------------------------------|--------------------------------------|-----------------------|-----|----------|-----|--------|
| | | Positivo | | Negativo | | |
| | | LIS | NIS | LIS | NIS | |
| Reagent e sperimentale | Positivo | 59 | 662 | 0 | 1 | 722 |
| | Negativo | 0 | 0 | 41 | 443 | 484 |
| | Totale | 59 | 662 | 41 | 444 | 1206 |
| Accordo percentuale positivi | | | | | | 99,8 |
| Accordo percentuale negativi | | | | | | 100 |
| Accordo percentuale complessivo | | | | | | 99,9 |

Risultati di studi sulla precisione

Sono stati condotti studi sulla precisione variando operatori, giorni e corse per confermare la ripetibilità e la riproducibilità dei risultati dei test eseguiti sia nella medesima corsa, nel medesimo giorno e col medesimo operatore, sia in corse diverse, in giorni diversi e con operatori diversi. Si è tenuto conto di variabili quali i giorni della settimana, le ore del giorno e i reagenti supplementari utilizzati nella procedura di test. Non ci sono stati risultati discordanti nei complessivi 720 punti dei dati; tutti i test i cui esiti attesi erano positivi hanno prodotto reazioni inequivocabilmente positive e tutti i test i cui esiti attesi erano negativi hanno prodotto reazioni inequivocabilmente negative.

BIBLIOGRAFIA

1. British Committee for Standards in Haematology: Guidelines for pre-transfusion compatibility procedures in blood transfusion laboratories, *Trans Med* 2013; 23: 3-35
2. National Blood Service: Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom, ed 8. TSO, 2013
3. Reid ME, Lomas-Francis C, Olsson ML: The Blood Group Antigen FactsBook, ed 3. Academic Press, 2012

DATA DI PUBBLICAZIONE

2018-02-02



Alba Bioscience Limited
Ellen's Glen Road
Edinburgh
Scotland, UK
EH17 7QT

Tel.: +44 (0) 131 445 6159
Fax: +44 (0) 131 445 6184
E-mail: customer.serviceEU@quotientbd.com
Site Web: www.quotientbd.com