

### Istruzioni per l'uso

Utilizzare esclusivamente da professionisti.

Tests per ml: max. 25 con dimensioni delle gocce di 40 µl quando si utilizzano delle pipette volumetriche separate



Revisione:		<b>01/11-2013</b>	
<b>Nome Prodotto:</b>	<b>Codice Prodotto:</b>	<b>Nome Prodotto:</b>	<b>Codice Prodotto:</b>
<b>Anti-A A-11H5</b>	A-mono-11H5	<b>Anti-B B-6F9</b>	B-mono-6F9
<b>Anti-A BIRMA-1</b>	A-mono-BIRMA	<b>Anti-B LB-2</b>	B-mono-LB2
<b>Anti-AB A-5E10-B-2D7</b>	AB-mono-5E10	(Mouse IgM)	

Reagente per la rilevazione del corrispondente antigene. Reagente per provetta, vetrino/piastra e micro piastra.  
 Tutti i metodi descritti sono validi solo per le applicazioni manuali come consigliato in questo foglio di istruzioni. L'utilizzatore deve determinare la loro idoneità all'uso in altre tecniche (strumentazione automatica, gel-cards, altri) secondo tecniche riconosciute e sotto la propria responsabilità.  
 Solo per uso diagnostico in vitro. Conservare a +2 - 8 °C quando non è utilizzato.

<b>Descrizione del Prodotto:</b>	Anti-A, Anti-B and Anti-AB sono reagenti monoclonali IgM di topo che riconoscono il corrispondente antigene sulle emazie in una reazione di agglutinazione diretta. Mancanza di agglutinazione indica l'assenza del corrispondente antigene. I rispettivi anticorpi monoclonali derivano da culture di linee cellulari di ibridoma (murino). Gli anticorpi (IgM) sono diluiti in un tampone di soluzione isotonica salina contenente albumina bovina (senza stabilizzanti), EDTA e ingredienti che facilitano la risospensione del bottone di emazie dopo la centrifugazione. E' aggiunto Sodio Azide (< 0,1% w/w concentrazione finale) come conservante.
<b>Cloni:</b>	<b>Anti-A: A-11H5 e BIRMA-1, Anti-B: B-6F9 e LB-2, Anti-AB: A-5E10-B-2D7</b> I reagenti Anti-A e Anti-B sono colorati (rispettivamente blu e giallo) per evitare confusione dei reagenti e per consentire un migliore controllo delle preparazioni.
<b>Note/Precauzioni:</b>	Sodio Azide può causare esplosioni se viene a contatto con piombo e rame. Quando si versa, fare scorrere abbondante acqua. Tutti i prodotti derivati dal sangue devono essere considerati come potenzialmente infetti. Nessun test noto può assolutamente garantire che i prodotti derivati dal sangue umano siano incapaci di trasmettere agenti infettivi. Si dovrebbe fare attenzione nell'uso e nello smaltimento del flacone e del suo contenuto.
<b>Scadenza</b>	I reagenti possono essere utilizzati fino alla data di scadenza indicate sulla etichetta se conservati correttamente a 2 - 8° C quando non sono utilizzati. Deve essere evitata contaminazione batterica.
<b>Metodi:</b>	Possono essere utilizzati campioni in EDTA, ACD, o campioni senza anticoagulante. Il test dovrebbe essere effettuato il prima possibile per ridurre al minimo la possibilità di reazioni falsamente positive o falsamente negative dovute a contaminazione o stoccaggio improprio della provetta. I campioni che non possono essere testati immediatamente possono essere conservati a 2-8 °C.
<b>Altri materiali necessari:</b>	Soluzione isotonica, pipette, vetrini, bastoncini applicatori, piastre, provette e rack per provette, centrifuga validata, pannello di emazie, timer. <b>Test in micropiastra:</b> micropiastre, shaker (opzionale), centrifuga per micropiastre; quando si utilizza un lettore o uno strumento automatico, è responsabilità dell'utilizzatore validare ogni accessorio necessario, Soluzione NaCl, timer, pipette, Albumina Bovina se necessario.
<b>Test in micropiastra:</b>	MTP da fornitori diversi mostrano caratteristiche diverse che potrebbero avere, di conseguenza, reazione non specifica delle emazie. Si raccomanda di pretrattare la MTP prima dell'utilizzo per minimizzare l'adesione delle emazie. Si consiglia MTP con fondo a U. <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Aggiungere una goccia (30-50µl) di Albumina Bovina al 22% in ciascun pozzetto.</li> <li>2. Rivestire completamente il pozzetto con movimenti manuali o mediante un agitatore di micropiastre.</li> <li>3. Incubare 10-15 min. a RT (18-25°C).</li> <li>4. Eliminare l'albumina bovina in un contenitore di rifiuti speciali</li> <li>5. Sciacquare la micropiastra almeno 10 volte con acqua del rubinetto.</li> <li>6. Lavare la micropiastra 2 volte con acqua distillata.</li> <li>7. Eliminare l'acqua in eccesso sbattendo più volte la micropiastra su della carta assorbente.</li> <li>8. Asciugare bene la micropiastra all'aria.</li> </ol> <p>Metodo alternativo da fare convalidare dall'operatore.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Preparare una sospensione di emazie al 2-3 % in soluzione isotonica. (Si raccomanda 2%)</li> <li>2. Aggiungere una goccia di reagente (30-50µl) in ciascun pozzetto della micropiastra.</li> <li>3. Aggiungere un ugual volume di sospensione cellulare in ciascun pozzetto.</li> <li>4. Miscelare il contenuto del pozzetto utilizzando uno shaker. (30 sec.)</li> <li>5. Non è richiesto un tempo di incubazione a parte nei casi di titolazioni o fenotipi deboli.</li> <li>6. Centrifugare la micropiastra a 1.500 UpM per 60 sec. o altro tempo e velocità appropriate.</li> <li>7. Risospendere le emazie utilizzando lo shaker. (As in 4.)</li> <li>8. Leggere la reazione macroscopicamente o utilizzando un lettore di micropiastre. L'utilizzo di un lettore automatico deve essere validato dal cliente. L'uso di rimedi visivi supplementari come specchio o la lente di ingrandimento può facilitare la lettura.</li> </ol>
<b>Test in provetta:</b>	Per ottenere dei risultati migliori, si consiglia di lavare le emazie almeno una volta in soluzione salina allo 0,9%. <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Preparare una sospensione di emazie al 2 - 3 % in soluzione salina.</li> <li>2. Aggiungere 1 goccia di antisiero e una goccia di sospensione di emazie in una provetta opportunamente etichettata e mescolare.</li> <li>3. Mescolare e centrifugare 1 min. at 400 g (circa 1.500 UpM) o alternativa UpM e tempo appropriato a produrre la reazione più forte. Potrebbero essere necessari tempi di incubazione superiori a 15 min. at RT per migliorare la reattività del reagente in caso di alcuni fenotipi rari.</li> <li>4. Agitare delicatamente la provetta per risospendere il bottone e verificare l'eventuale agglutinazione.</li> <li>5. Registrare i risultati e la forza di reazione.</li> </ol>

### Istruzioni per l'uso

Utilizzare esclusivamente da professionisti.

Tests per ml: max. 25 con dimensioni delle gocce di 40 µl quando si utilizzano delle pipette volumetriche separate



Revisione:		<b>01/11-2013</b>	
<b>Nome Prodotto:</b>	<b>Codice Prodotto:</b>	<b>Nome Prodotto:</b>	<b>Codice Prodotto:</b>
<b>Anti-A A-11H5</b>	A-mono-11H5	<b>Anti-B B-6F9</b>	B-mono-6F9
<b>Anti-A BIRMA-1</b>	A-mono-BIRMA	<b>Anti-B LB-2</b>	B-mono-LB2
<b>Anti-AB A-5E10-B-2D7</b>	AB-mono-5E10	(Mouse IgM)	

Reagente per la rilevazione del corrispondente antigene. Reagente per provetta, vetrino/piastra e micro piastra.  
 Tutti i metodi descritti sono validi solo per le applicazioni manuali come consigliato in questo foglio di istruzioni. L'utilizzatore deve determinare la loro idoneità all'uso in altre tecniche (strumentazione automatica, gel-cards, altri) secondo tecniche riconosciute e sotto la propria responsabilità.  
 Solo per uso diagnostico in vitro. Conservare a +2 - 8 °C quando non è utilizzato.

<b>Test su vetrino/piastra:</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>Il test su vetrino è condotto su sangue intero, mentre su piastra su emazie lavate o sangue intero.</li> <li>Mettere una goccia di reagente su vetrino o su piastra.</li> <li>Aggiungere una goccia di sangue intero (intero (resp. 35-45% sospensione di emazie) o una sospensione di emazie al 10 % in soluzione fisiologica del campione utilizzando una pipetta o un bastoncino applicatore.</li> <li>Mescolare il campione con il reagente. Sui vetrini utilizzare un applicatore pulito per mescolare reagente/emazie su una superficie di circa 20 mm di diametro. Per la procedura su piastra, seguire le istruzioni del produttore. Leggere e trascrivere i risultati. Oscillare il vetrino per un periodo fino a 2 minuti e incubare la piastra per 5-10 minuti.</li> <li>Osservare l'agglutinazione macroscopica e registrare i risultati. Porre attenzione a non confondere secchezza periferica o filamenti di fibrina come agglutinati.</li> </ol>
<b>Interpretazione dei risultati:</b>	Ci deve essere accordo tra i risultati della determinazione degli antigeni (gruppo diretto) e la determinazione degli alloanticorpi (gruppo indiretto) del campione in esame. L'interpretazione delle reazioni ottenute dalla tipizzazione di un campione di neonato può essere complicata dal fatto che il plasma non contiene necessariamente gli anticorpi degli antigeni assenti sulle emazie e anticorpi passivi Anti A e/o Anti B provenienti dal circolo della mamma potrebbero portare a dei risultati discordanti se la determinazione viene fatta su sangue cordonale. I campioni di sangue cordonale possono dare delle reazioni più deboli del normale in quanto gli antigeni non sono sviluppati completamente alla nascita.
<b>Avvertenze :</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Controllo: deve essere testato in parallelo un controllo positivo e un controllo negativo</li> <li>In piastra, occasionalmente il sangue del campione può reagire formando dei rouleaux, che possono essere confusi con agglutinazioni e potrebbero essere interpretati erroneamente come reazione positiva. Questo fenomeno ha cause non immunologiche. Formazioni rouleaux possono capitare anche in campioni con eparina, in sangue di pazienti trattati con espansori di plasma (es. destrano) così come in pazienti con plasmacitoma (alto contenuto di proteine, cambiamenti nella composizione proteica), malattia oncologica (emocromo anomalo) o disfunzioni della coagulazione. Per testare questi pazienti, utilizzare il test in provetta, che di solito evita questo fenomeno.</li> <li>Il reagente agglutina antigeni espressi debolmente con normale o debole forza di reazione (A3, Bweak) o da più debole a negativa (Ax). Per determinare gli antigeni espressi debolmente, sarebbe meglio utilizzare il test in provetta perché più sensibile, se necessario incubare per 30 minuti.</li> <li>Reazioni insolitamente deboli, fino a non reattività possono verificarsi con sottogruppi A e B. I globuli rossi di persone con alcuni stati patologici possono dare reazioni falsamente positive o falsamente negative con anti-A o a anti-B.</li> <li>Emazie da cordone contaminate con gelatine di Wharton potrebbero dare reazioni false positive.</li> <li>Non utilizzare reagenti monoclonali di origine di topo con il siero Antiglobulina.</li> <li>Alcuni sottogruppi A e B possono dare reazioni che sono più deboli o addirittura negative rispetto a quelle che si possono ottenere con emazie A o B di donatori casuali. La presenza di questi anticorpi non può essere prevista. Quando sufficientemente forti, questi possono causare agglutinazione non specifica di emazie A1 e B nella determinazione del gruppo indiretto. Possono anche dare agglutinazioni non specifiche nella determinazione del gruppo diretto con anti-A, anti-B e anti-AB quando le emazie non vengono lavate. E' obbligatorio determinare il gruppo sanguigno sia con la prova diretta sia con la prova indiretta.</li> <li>Discrepanze fra le due prove devono essere risolte prima di assegnare il gruppo a prescindere dalla forza di reazione ottenuta nella prova diretta o indiretta.</li> </ul>
<b>Limiti:</b>	La forza di reazione può dipendere dall'età del campione di sangue. Reazioni falsamente positive o falsamente negative possono capitare in caso di scarsa concentrazione di emazie del campione, temperatura e/o tempo di incubazione non adeguato, centrifugazione non corretta, non corretta conservazione del materiale o non considerazione delle istruzioni d'uso dei differenti metodi. Possono anche capitare in seguito a contaminazione batterica o chimica degli antisieri, delle emazie campione o della soluzione salina. Quando vengono utilizzati metodi meno sensibili rispetto al test in provetta, possono capitare delle reazioni falsamente negative con anti-AB e emazie deboli Ax. Quindi si raccomanda di ripetere il test in provetta. <i>Clone BIRMA-1 non è stato testato dall'azienda per il riconoscimento di emazie Ax.</i> L'utilizzo degli antisieri su strumentazione automatica o gel-card potrebbe richiedere delle diluizioni. L'utilizzo dei reagenti manipolati comporta una validazione da parte dell'utilizzatore sotto la propria responsabilità. Ciò vale anche per il congelamento degli antisieri in micropiastra.