



## Istruzioni per l'uso

Utilizzare esclusivamente da professionisti.  
 Tests per ml: max. 20

Revisione:

01/02-2013

Nome Prodotto:

Codice Prodotto:

Anti-D  
 incompleto

D-inco-10 1x10 ml

(IgG umane)

Reagente per la rilevazione del corrispondente antigene Reagente per micropiastro, provetta, piastra e tecnica all'antiglobulina indiretta.

**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>	L'antisiero Anti D incompleto è preparato da un pool di sieri umani contenenti anticorpi policlonali e rilevano il corrispondente antigene sulla superficie dei globuli rossi secondo il principio dell'emoagglutinazione. L'antisiero è diluito con soluzione di Sodio Cloride, Albumina Bovina (libera da sodio caprilato) e ulteriori potenziatori di reazione. Come conservante viene aggiunto Sodio Azide (< 0,1% w/w concentrazione finale). Le cellule che possiedono una forma debole dell'antigene Anti-D potrebbero non reagire o reagire debolmente in provetta, piastra ecc. Quindi deve essere effettuato il test indiretto all'antiglobulina (Coombs-test). Se anche in questo caso si ottiene una reazione negativa, viene confermato l'assenza dell'antigene D sulla superficie dei globuli rossi.												
<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. Il materiale umano utilizzato è stato testato ed è risultato negativo per anticorpi HIV, HCV e HbsAg. 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. L'Albumina Bovina che viene utilizzata proviene esclusivamente da capi di allevamento controllati per l'assenza di BSE												
<b>Metodo:</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>Materiale richiesto ma non fornito:</b>	Isotonica salina, Albumina Bovina al 22%, siero AB, siero antiglobulina, siero Rh control, pipette, vetrini, piastre, provette, porta provette, centrifuga, pannello cellulare, timer. Tecnica all'antiglobulina indiretta per l'espressione debole dell'antigene D: provette, incubatore a 37°C, siero antiglobulina, Centrifuga (1500 crf), emazie sensibilizzate IgG (Coombs control cells), Isotonica salina, Timer <u>Test in Micropiastro:</u> micropiastre, agitatore micropiastre (opzionale), centrifuga, se si utilizza lettore e/o strumentazione automatica è responsabilità dell'operatore convalidare qualsiasi dispositivo accessorio soluzione NaCl, timer, pipette e se necessario anche l'albumina bovina.												
<b>Test in micropiastro:</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'uso per minimizzare l'adesione delle emazie. Si consiglia MTP con fondo a U.  <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Aggiungere 1 goccia (30-50µl) di Albumina Bovina al 22% in ciascun pozzetto.</li> <li>2. Rivestire uniformemente i pozzetti ruotando gentilmente la micropiastro o ponendo la stessa su un agitatore.</li> <li>3. Incubare per 10-15 min. a temperatura ambiente (18-25°C).</li> <li>4. Eliminare l'Albumina Bovina ribaltando la micropiastro.</li> <li>5. Sciacquare la micropiastro almeno 10 volte con acqua di rubinetto.</li> <li>6. Sciacquare la micropiastro 2 volte con acqua distillata.</li> <li>7. Eliminare tutta l'acqua ribaltando la micropiastro.</li> <li>8. Asciugare la micropiastro all'aria prima dell'utilizzo.</li> </ol> Metodo alternativo da fare convalidare dall'operatore <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 micropiastro.</li> <li>3. Aggiungere un ugual volume di sospensione cellulare in ciascun pozzetto.</li> <li>4. Miscelare il contenuto del pozzetto utilizzando uno scaker. (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 micropiastro a 1.500 UpM per 60 sec. o altro tempo e velocità appropriate.</li> <li>7. Risospendere le emazie utilizzando lo shaker. (come 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>	<table border="1"> <tr> <td>1.</td> <td>Dopo il lavaggio preparare una sospensione al 2-3 % di emazie in soluzione isotonica allo 0,9%, in Albumina Bovina al 22%, nel plasma e/o siero del medesimo gruppo o nel suo autologo.</td> </tr> <tr> <td>2.</td> <td>Aggiungere una goccia di Anti D policlonale e una goccia di sospensione di emazie in una provetta debitamente etichettata.</td> </tr> <tr> <td>3.</td> <td>Centrifugare 1 min. a 400 x g (1500 UpM) o tempo e forza adeguata per avere reazioni più forti.</td> </tr> <tr> <td>4.</td> <td>Agitare delicatamente la provetta per risospendere il bottone e verificare l'eventuale agglutinazione.</td> </tr> <tr> <td>5.</td> <td>Registrare i risultati e la forza di reazione. In parallelo deve essere effettuato anche un controllo positivo e uno negativo.</td> </tr> <tr> <td>6.</td> <td><b>Tutti i campioni negative devono essere incubati per 15-30 minuti a 37° C e devono essere lavati 3 volte in soluzione di NaCl allo 0,9%.</b> Aggiungere 1 o 2 gocce di Siero Antiglobulina, mixare bene e centrifugare a 400 x g (1.500 UpM). Risospendere il bottone di emazie mediante una gentile agitazione ed esaminare l'eventuale agglutinazione. Le reazioni negative devono essere confermate con le cellule del Coombs Control. Le reazioni positive devono essere confermate da un test di Coombs diretto, che deve risultare negativo.</td> </tr> </table>	1.	Dopo il lavaggio preparare una sospensione al 2-3 % di emazie in soluzione isotonica allo 0,9%, in Albumina Bovina al 22%, nel plasma e/o siero del medesimo gruppo o nel suo autologo.	2.	Aggiungere una goccia di Anti D policlonale e una goccia di sospensione di emazie in una provetta debitamente etichettata.	3.	Centrifugare 1 min. a 400 x g (1500 UpM) o tempo e forza adeguata per avere reazioni più forti.	4.	Agitare delicatamente la provetta per risospendere il bottone e verificare l'eventuale agglutinazione.	5.	Registrare i risultati e la forza di reazione. In parallelo deve essere effettuato anche un controllo positivo e uno negativo.	6.	<b>Tutti i campioni negative devono essere incubati per 15-30 minuti a 37° C e devono essere lavati 3 volte in soluzione di NaCl allo 0,9%.</b> Aggiungere 1 o 2 gocce di Siero Antiglobulina, mixare bene e centrifugare a 400 x g (1.500 UpM). Risospendere il bottone di emazie mediante una gentile agitazione ed esaminare l'eventuale agglutinazione. Le reazioni negative devono essere confermate con le cellule del Coombs Control. Le reazioni positive devono essere confermate da un test di Coombs diretto, che deve risultare negativo.
1.	Dopo il lavaggio preparare una sospensione al 2-3 % di emazie in soluzione isotonica allo 0,9%, in Albumina Bovina al 22%, nel plasma e/o siero del medesimo gruppo o nel suo autologo.												
2.	Aggiungere una goccia di Anti D policlonale e una goccia di sospensione di emazie in una provetta debitamente etichettata.												
3.	Centrifugare 1 min. a 400 x g (1500 UpM) o tempo e forza adeguata per avere reazioni più forti.												
4.	Agitare delicatamente la provetta per risospendere il bottone e verificare l'eventuale agglutinazione.												
5.	Registrare i risultati e la forza di reazione. In parallelo deve essere effettuato anche un controllo positivo e uno negativo.												
6.	<b>Tutti i campioni negative devono essere incubati per 15-30 minuti a 37° C e devono essere lavati 3 volte in soluzione di NaCl allo 0,9%.</b> Aggiungere 1 o 2 gocce di Siero Antiglobulina, mixare bene e centrifugare a 400 x g (1.500 UpM). Risospendere il bottone di emazie mediante una gentile agitazione ed esaminare l'eventuale agglutinazione. Le reazioni negative devono essere confermate con le cellule del Coombs Control. Le reazioni positive devono essere confermate da un test di Coombs diretto, che deve risultare negativo.												
<b>Test su vetrino/piastra:</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Il test su vetrino viene fatto con sangue intero, su piastra o con sangue intero o con emazie lavate</li> <li>2. Porre una goccia di reagente (appr. 50 µl) su un vetrino o su una piastra.</li> <li>3. Aggiungere una goccia di sangue intero (resp. 35-45% di sospensione di emazie) su un vetrino o sospensione al 10% in soluzione salina allo 0,9% su una piastra. Miscelare reagente e sangue. Sui vetrini utilizzare un applicatore pulito per mescolare reagente/emazie su una superficie di circa 20mm diametro. Per la procedura sulla piastra, seguire le istruzioni del produttore.</li> <li>4. Leggere macroscopicamente e registrare i risultati. Ciò è possibile facendo roteare lentamente il vetrino per circa 2 minuti e per il test in piastra dopo una incubazione di 5 - 10 minuti. Il tempo di incubazione se si utilizza sangue intero è limitato max a 5 minuti. Non posizionare i vetrini o le piastre su una superficie illuminate e riscaldata.</li> <li>5. Porre attenzione a non confondere secchezza periferica o filamenti di fibrina come agglutinazioni.</li> </ol>												
<b>Avvertenze:</b>	Si consiglia l'utilizzo di un controllo positivo e di un controllo negativo in parallelo alle determinazioni dei campioni, leggera torbidità non influenza le prestazioni del reagente. Non congelare ed utilizzare il reagente solo fino alla data di scadenza indicate sull'etichetta. Tecniche manuali vengono eseguite secondo i consigli del produttore. L'uso dell'antisiero su strumentazione può richiedere diluizioni. L'uso di tali sieri manipolati chiede ri-convalida sotto la responsabilità dell'operatore. Ciò vale per tutte le manipolazioni come per esempio il congelamento del reagente in micropiastro. Non utilizzare reagenti monoclonali di origine di topo con il siero Antiglobulina												
<b>Limiti:</b>	Risultati falsamente positivi o falsamente negativi possono avvenire per contaminazione batterica o chimica dei materiali, tempi e temperature di incubazione inadeguati, centrifugazione non corretta, improprio stoccaggio dei materiali o non considerazione delle istruzioni dei diversi metodi. La forza della reazione può dipendere dall'età del campione.												