

## Istruzioni per l'uso

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



<b>Revisione:</b>	01/02-2013
<b>Nome Prodotto:</b>	<b>Codice Prodotto :</b>
<b>Anti-D MS-201</b>	D-mono-MS201
<b>Anti-D RUM-1</b>	D-mono-RUM
Reagente per la rilevazione dell'antigene D. Reagente per micropiastra, vetrino, piastra, provetta. <b>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.</b> Solo per uso diagnostico in vitro. Conservare a +2 - 8 °C quando non è utilizzato.	

<b>Descrizione Prodotto:</b>	Anti-D (clone MS 201 e clone Rum-1) sono reagenti monoclonali di tipo IgM che derivano line cellulari di ibridoma umano che sono in grado di rilevare il corrispondente antigene in una reazione di agglutinazione diretta. La mancanza di agglutinazione indica l'assenza del corrispondente antigene. Viene utilizzato Sodio Azide a una concentrazione finale < 0,1% w/w come conservante. La soluzione di Albumina Bovina proviene da animali di origine Americana che sono stati controllati e certificate come animali sani. Queste due line cellulari riconoscono la maggior parte dei Dweak, ma non riconoscono il DVI. ( come richiesto dalle linee guida UKBTS e BCSH). La tecnica in vetrino/piastra non è raccomandata per la rilevazione delle emazie Dweak.												
<b>Cloni :</b>	<b>MS-201 and RUM-1</b>												
<b>Note/Avvertenze:</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 negative 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>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. <u>Test in micropiastra:</u> 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>	<ol style="list-style-type: none"> <li>Preparare una sospensione di emazie al 3-5% in fisiologica.</li> <li>Aggiungere una goccia di reagente Anti-D (30-50µl) in un pozzetto della micropiastra</li> <li>Aggiungere un ugual volume di sospensione cellulare al pozzetto.</li> <li>Mescolare il contenuto manualmente o utilizzando uno shaker e incubare la micropiastra a temperature ambiente per 15-20 minuti.</li> <li>Centrifugare la micropiastra a 100 rcf per circa 40 secondi o ad una forza e tempo tali da produrre una forte reazione.</li> <li>Rispendere le emazie. Leggere il test macroscopicamente o con un lettore automatico. L'utilizzo di un lettore di micro piastra automatico deve essere validato dall'utilizzatore.</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>Prepare a 3-5 % suspension of red cells in 0,9% isotonic saline.</li> <li>Aggiungere una goccia di anti-D e una goccia di emazie in una provetta debitamente etichettata e mescolare.</li> <li>Centrifugare circa 20 secondi a 900 – 1000 x g, circa 1 minuto a 1500 UpM o un tempo tale da produrre una forte reazione.</li> <li>Agitare delicatamente ciascuna provetta per riso spendere il bottone di emazie ed esaminare l'eventuale agglutinazione macroscopicamente. Trascrivere i risultati e la forza di reazione. To ensure appropriate reactivity ensure parallel testing against antigen-positive and antigen-negative cells.</li> <li>Se si desidera incubare I campioni negative o debolmente positivi a 37°C per 5 minuti e ripetere i passaggi 3. e 4. Ciò potrebbe aumentare la forza di reazione nella tipizzazione di emazie con fenotipo raro.</li> </ol>												
<b>Test su vetrino/piastra:</b>	<table border="1"> <tr> <td>1.</td> <td>Il test su vetrino è condotto su sangue intero, mentre su piastra su emazie lavate o sangue intero.</td> </tr> <tr> <td>2.</td> <td>Mettere una goccia di reagente su vetrino o su piastra.</td> </tr> <tr> <td>3.</td> <td>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.</td> </tr> <tr> <td>4.</td> <td>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</td> </tr> <tr> <td>5.</td> <td>Leggere e trascrivere i risultati. Oscillare il vetrino per un periodo fino a 2 minuti e incubare la piastra per 5-10 minuti. Non mettere il vetrino o la piastra sulla superficie di un trasluminatore.</td> </tr> <tr> <td>6.</td> <td>Osservare l'agglutinazione macroscopica e registrare i risultati. Porre attenzione a non confondere secchezza periferica o filamenti di fibrina come agglutinati.</td> </tr> </table>	1.	Il test su vetrino è condotto su sangue intero, mentre su piastra su emazie lavate o sangue intero.	2.	Mettere una goccia di reagente su vetrino o su piastra.	3.	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.	4.	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	5.	Leggere e trascrivere i risultati. Oscillare il vetrino per un periodo fino a 2 minuti e incubare la piastra per 5-10 minuti. Non mettere il vetrino o la piastra sulla superficie di un trasluminatore.	6.	Osservare l'agglutinazione macroscopica e registrare i risultati. Porre attenzione a non confondere secchezza periferica o filamenti di fibrina come agglutinati.
1.	Il test su vetrino è condotto su sangue intero, mentre su piastra su emazie lavate o sangue intero.												
2.	Mettere una goccia di reagente su vetrino o su piastra.												
3.	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.												
4.	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												
5.	Leggere e trascrivere i risultati. Oscillare il vetrino per un periodo fino a 2 minuti e incubare la piastra per 5-10 minuti. Non mettere il vetrino o la piastra sulla superficie di un trasluminatore.												
6.	Osservare l'agglutinazione macroscopica e registrare i risultati. Porre attenzione a non confondere secchezza periferica o filamenti di fibrina come agglutinati.												
<b>Avvertenze:</b>	Controllo positivo e negativo deve essere testato in parallelo al campione. Leggera torbidità non influisce sulle sue prestazioni del reagente. Non congelare l'antisiero e utilizzarlo solo fino alla data di scadenza indicata sulla etichetta. Tecniche manuali vengono eseguite secondo le indicazioni del produttore. L'utilizzo del reagente su strumentazione automatica potrebbe richiedere la diluizione. L'utilizzo di antisieri manipolati richiede la convalida sotto la responsabilità dell'operatore. Ciò vale per tutte le manipolazioni come, per esempio, il congelamento dell'antisiero per la micropiastra. Non usare reagenti monoclonali con anticorpi di topo in test diretto all'antiglobulina con reagente AHG.												
<b>Limitazioni:</b>	La forza della reazione dipendono dall'età del campione di sangue. 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.												
<b>Il sistema Rh:</b>	Le osservazioni di Levine e Statson nel 1939 e di Landsteiner e Weiner nel 1940 hanno fornito la base per la comprensione corrente del significato clinico e di laboratorio nella rilevazione di anti-D. Circa il 15% dei caucasici non hanno l'antigene Rh e se stimolati, per esempio, da una gravidanza o con trasfusione di sangue RhD a possono produrre anti-D. Ciò può causare malattia emolitica neonatale o importanti razioni emolitiche trasfusionali.												
<b>Bibliografia:</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>Landsteiner, K. &amp; Wiener, A.S.: "An agglutinable factor in human blood recognized by immune sera for rhesus blood". N.Y., Proc. exp. Biol. 1940; 43:223</li> <li>Levine, P. &amp; Stefson, R.E.: "An unusual case of intragroup agglutination" J. Amer. Med. Assoc. 1939; 113:126-127</li> <li>Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom. 5<sup>th</sup>. Edition 2001. The Stationary Box.</li> </ol>												