

# 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			
BSA 22% (Bovine Serum Albumin)		REF	K1106	IVD	CE
BSA 30% (Bovine Serum Albumin)		REF	K1107	IVD	CE
037_v04 07/2019 (it)				Solo per uso professionale	

Reagente potenziante per analisi sierologiche

## Informazioni generali

La Bovine serum albumin (BSA 22% e 30%) sono mezzi utilizzati come potenziatori nelle analisi sierologiche. La loro aggiunta aumenta la costante dielettrica del mezzo di reazione che, a sua volta, induce una riduzione del potenziale zeta dei globuli rossi. La riduzione delle cariche negative fa diminuire la distanza minima tra gli eritrociti rendendo più facile la reazione di agglutinazione da parte degli anticorpi IgG. Questi reagenti sono standardizzati per l'utilizzo in analisi sierologiche secondo la procedura descritta di seguito. La loro preparazione si ottiene attraverso la frammentazione del siero bovino. La procedura del test si compone di tre fasi: In questo modo sono fornite informazioni utili sulle caratteristiche sierologiche dell'anticorpo. Tali reagenti soddisfano i requisiti delle normative e disposizioni vigenti. Le caratteristiche funzionali sono descritte nei documenti di rilascio forniti su richiesta a corredo dei prodotti. Il principio del test è la tecnica di agglutinazione, basata sulla reazione antigene/anticorpo. Si raccomanda vivamente di inserire un controllo positivo in tutte le serie dei test.

## Avvertenze

Unicamente per uso diagnostico *in vitro*. Conservare i reagenti a temperature comprese tra 2–8°C. Non utilizzare flaconcini danneggiati o non sigillati. Non utilizzare i reagenti (aperti o non aperti) oltre la data di scadenza riportata sull'etichetta del flaconcino. Come conservante è utilizzata la NaN<sub>3</sub> 0,1% (w/v). Sebbene la sieralbumina bovina sia stata analizzata per le malattie infettive e sia risultata negativa, 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. La torbidità può essere un indice di contaminazione microbica. Per individuare il deterioramento del reagente, 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

Test antiglobulina indiretto con BSA 22% o 30%

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

1. Preparare una sospensione cellulare di eritrociti da analizzare al 3–5% in soluzione fisiologica (utilizzare cellule commerciali fornite).
2. Introdurre in una provetta:
  - 2 gocce di siero del paziente
  - 1 goccia di sospensione cellulare al 3–5%
  - 2 gocce di BSA 22% o 30%e mescolare accuratamente.
3. Centrifugare a 1000 rcf per 20 secondi o per un tempo appropriato in base alla calibrazione della centrifuga.
4. Risospendere le cellule agitando con attenzione e procedere alla lettura macroscopica dell'agglutinazione.
5. Risospendere le cellule e incubare la provetta in un bagnomaria a 37°C per 15–20 min.
6. Centrifugare a 1000 rcf per 20 secondi o per un tempo appropriato in base alla calibrazione della centrifuga.
7. Risospendere le cellule agitando con attenzione e procedere alla lettura macroscopica dell'agglutinazione.
8. Risospendere le cellule completamente e lavare tre volte gli eritrociti con soluzione fisiologica in eccesso. Decantare completamente l'ultimo lavaggio.
9. Aggiungere due gocce di Pelikloon polyspecific anti-human serum (**REF** K1193 o K1194) e mescolare accuratamente.
10. Centrifugare a 1000 rcf per 20 secondi o per un tempo appropriato in base alla calibrazione della centrifuga.
11. Risospendere le cellule agitando con attenzione e procedere alla lettura macroscopica dell'agglutinazione.
12. In assenza di agglutinazione visibile aggiungere una goccia di Coombs Control Cells e ripetere le operazioni descritte ai punti 10 e 11; a questo punto la reazione dovrebbe essere positiva. Se il test è ancora negativo il risultato non è valido ed il test deve essere ripetuto.

## Interpretazione

La presenza di agglutinazione indica un risultato del test positivo. L'assenza di agglutinazione indica che non è stato possibile rilevare un risultato del test positivo. In tutte le fasi del test verificare sempre, con attenzione, l'assenza di emolisi. L'emolisi indica la presenza di anticorpi che si legano al complemento, i quali possono essere responsabili della distruzione intravascolare degli eritrociti.

### **Limitazioni**

Risultati negativi o deboli dovuti a: agitazione delle provette troppo vigorosa durante la risospensione, interruzioni nel corso del test o lavaggi degli eritrociti non efficaci (in questo caso il siero polispecifico anti-umano è neutralizzato dalle proteine (IgG) e/o dei componenti del complemento ancora presenti nella provetta).

BSA 22% e 30% sono stati ottimizzati per l'uso con la tecnica descritta in questo foglietto illustrativo. A meno che diversamente specificato, la sua idoneità in tecniche diverse deve essere determinata dall'utente.

Risultati falsi positivi o falsi negativi possono essere dovuti alla contaminazione dei materiali impiegati per il test o a qualunque deviazione rispetto alla tecnica raccomandata.

### **Bibliografia**

1. Race R.R. and Sanger R; Blood Groups in Man, 6<sup>th</sup> ed. Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975.
2. Issit P.D.; Applied Blood Group Serology, 3<sup>rd</sup> ed. Montgomery Scientific Publications, Miami, Florida, USA, 1985.
3. Daniels G.; Human Blood Groups. Blackwell Science Ltd. 1995.
4. Mollison P.L. et al.; Blood Transfusion In Clinical Medicine, 9<sup>th</sup> 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.*