

AREA CENTRALE REGIONALE DI ACQUISTO

Il Dirigente RUP: Dott. Luigi Moreno Costa – tel. 010 5488661

Luigimoreno.costa@regione.liguria.it

Referente:

isabella.levrieri@regione.liguria.it

Determinazione n. 347 del 20/09/2018

OGGETTO: gara a procedura aperta, ai sensi dell'art. 55 D.Lgs. n. 163/2006, per l'affidamento della fornitura inclusive service di "sistemi analitici automatizzati per la determinazione del gruppo sanguigno, test pre-trasfusionali, esami aggiuntivi, immunoematologia molecolare, sieri liquidi" per le aziende sanitarie della Regione Liguria per un periodo di anni 5 (con opzione di rinnovo per ulteriori 2 anni) - Lotti n. 6 Numero gara 6090890.

Integrazione prodotto offerta lotto 4 della Ditta Immucor Italia spa

IL DIRETTORE DELL'AREA

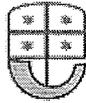
Vista la Legge della Regione Liguria 06/11/2012 n. 34 con la quale le funzioni di Centrale regionale di Acquisto (CRA), ai sensi dell'art. 37 del D.Lgs. 18/04/2016, n. 50, già disciplinate dalla L.R. n.14/2007 e s.m.i. sono state assegnate, a decorrere dall'01/01/2013 ad apposita area dell'Agenzia Sanitaria Regionale (ARS);

visto l'art. 11 comma 16 della legge Regione Liguria 29/07/2016, n. 17 con la quale le funzioni di Centrale Regionale di Acquisto esercitate da ARS sono svolte a far data dal 01/10/2016 da A.Li.Sa.;

vista le deliberazioni n. 152 e 153 del 23/11/2017 del Commissario Straordinario di A.Li.Sa. con le quali sono state definite e attribuite in via transitoria le responsabilità dirigenziali al Direttore e ai Dirigenti dell' Area CRA;

richiamata la propria Determinazione n. 040 del 18/02/2016, al cui contenuto necessariamente si rinvia, con la quale era stato aggiudicato l'affidamento della fornitura inclusive service di "sistemi analitici automatizzati per la determinazione del gruppo sanguigno, test pre-trasfusionali, esami aggiuntivi, immunoematologia molecolare, sieri liquidi" per le aziende sanitarie della Regione Liguria;

atteso che con nota acquisita agli atti della Centrale, prot. n. 18067 del 18/09/2018, la Ditta Immucor Italia Spa ha comunicato un'offerta integrativa per due prodotti destinati alle indagini di terzo livello per l'identificazione degli anticorpi irregolari, al lotto n. 4 "DETERMINAZIONE ULTERIORI ESAMI IMMUNOEMATOLOGICI che verranno forniti alle medesime condizioni economiche esistenti praticate sul pannello "base" Capture – R Ready ID offerto in gara (codice 66204, prezzo a confezione-6 test- 102,50 euro), non comportando, quindi, alcun tipo di onere aggiuntivo;



Alisa

Sistema Sanitario Regione Liguria

Descrizione prodotti integrativi	Prezzo listino	Sconto applicato (%)	Prezzo a confezione	Confezioni anno	Importo abbonamento per 13 conf anno iva escl
6454 Capture-R ready ID <u>Extend I</u> , plate 6 test	€ 228,00	€ 55.0439	€ 102.36	13	€ 1.332,50
6456 Capture-R ready ID <u>Extend II</u> , plate 6 test	€ 228,00	€ 55.0439	€ 102.36	13	€ 1.332,50

Verificato che il Presidente della Commissione Giudicatrice, con nota acquisita agli atti della Centrale n. 17723 del 13-09-2018, al cui contenuto necessariamente si rinvia, ha espresso parere favorevole alla proposta tecnica di integrazione dei prodotti in questione al lotto 4 (vedi scheda tecnica allegata);

Ritenuto, sulla scorta di quanto sopra evidenziato, di autorizzare, ai sensi dell'art. 28 della Convenzione di fornitura, la Ditta Immucor Italia spa alla integrazione dei prodotti al lotto 4 sopra citati;

Su proposta del Dirigente Responsabile;

DETERMINA

- di prendere atto delle valutazioni del Presidente della Commissione Giudicatrice in ordine alla ammissibilità della proposta tecnica di integrazione di prodotto di cui in narrativa formulata dalla ditta Immucor Italia spa;
- di autorizzare, ai sensi dell'art. 28 della Convenzione di fornitura, la sopracitata Ditta Immucor Italia spa, titolare della fornitura in questione, alla integrazione dei prodotti sopraindicati al lotto 4 alle medesime condizioni economiche esistenti, non comportando, quindi, alcun tipo di onere aggiuntivo;
- di provvedere alla notifica del presente atto alla ditta Immucor Italia spa e alle AA.SS.LL., AA.OO. e I.R.C.C.S. della Regione Liguria;
- di dare altresì atto che il presente provvedimento è composto da numero due (2) pagine.

IL DIRETTORE AREA
CENTRALE REGIONALE DI ACQUISTO
(Dott. Giorgio SACCO)

Capture-R® Ready-ID®

Capture-R® Ready-ID® Extend I (D-Positive Panel) Capture-R® Ready-ID® Extend II (D-Negative Panel)

Solid Phase System for the Identification of Unexpected IgG Antibodies to Red Blood Cells

 Immucor, Inc.
Norcross, GA 30071 USA

369it-5



 Immucor Medizinische Diagnostik GmbH
Adam-Opel-Strasse 26 A
63322 Rödermark, GERMANY

Uso:

Solid Phase System for the Identification of Unexpected IgG Antibodies to Red Blood Cells	Sistema in Fase Solida per l'identificazione di anticorpi eritrocitari irregolari di classe IgG
---	---

Capture-R® Ready-ID® si utilizza nell'identificazione di anticorpi irregolari di classe IgG in metodiche manuali, semiautomatiche e automatiche. Capture-R® Ready-ID® Extend è un pannello che si aggiunge a Capture-R® Ready-ID® nella procedura di identificazione anticorpale anticorpi eritrocitari di classe IgG.

Riassunto:

Nel siero della popolazione di pazienti e donatori, è possibile ritrovare anticorpi irregolari in una percentuale dello 0.3 - 3%¹⁻³. Molti di questi anticorpi sono clinicamente significativi e possono causare una diminuzione della sopravvivenza delle emazie come risultato di reazioni emolitiche post-trasfusionali, malattia emolitica del neonato o anemia emolitica autoimmune. Per individuare la presenza di questi anticorpi nel siero di pazienti e donatori, vengono utilizzati test di ricerca anticorpale in vitro (screening). Emazie selezionate, come quelle presenti nel kit Capture-R Ready Screen, vengono incubate con il siero o il plasma da testare, nelle condizioni di reazione favorevoli alla ricerca anticorpale.⁴ I test di identificazione anticorpale eseguiti con Capture-R Ready-ID o Capture-R Ready-ID Extend hanno il fine di determinare la specificità anticorpale per predisporre unità selezionate per la donazione. L'identificazione anticorpale aiuta, inoltre, nella diagnosi e nel trattamento della malattia emolitica del neonato e, occasionalmente, nell'anemia emolitica autoimmune.

Principio del metodo:

Capture-R Ready-ID e Capture-R Ready-ID Extend sono sistemi di ricerca di anticorpi in fase solida basati sulle metodiche studiate da Plapp e al⁵ e Juji e al⁶. Membrane di emazie vengono legate ed essiccate sulla superficie di micropozzetti in polistirene. Gli antigeni di membrana vengono utilizzati per catturare anticorpi specifici di classe IgG da plasma o siero di pazienti o donatori. In seguito ad una breve incubazione, le immunoglobuline residue non legate, vengono eliminate mediante lavaggio e viene dispensata nel pozzetto una sospensione di emazie indicatrici sensibilizzate con Anti-IgG. La centrifugazione permette il contatto tra le emazie indicatrici e gli anticorpi legati agli stromi di emazie adesi al pozzetto. Nel caso di un risultato positivo, la migrazione delle emazie indicatrici verso il fondo del pozzetto, è impedita dai complessi IgG-IgG formati tra le emazie indicatrici stesse e il monostrato delle emazie test adesive sul fondo del pozzetto e sensibilizzate dagli alloanticorpi. Come conseguenza di questa interazione anticorpale, le emazie indicatrici formano un secondo monostrato. In assenza di interazioni antigene-anticorpo (test negativo) le emazie indicatrici non si legano al monostrato di emazie test e formano quindi, un bottone di emazie sul fondo del micropozzetto.

Reagenti:

1. Capture-R Ready-ID consiste in strip di 2 x 8 pozzetti a cui sono adese le membrane essiccate di 14 donatori di gruppo O. Le emazie del pannello vengono scelte in modo da esprimere gli antigeni più frequentemente ereditati. Le strip Capture-R Ready-ID contengono, inoltre, due pozzetti con un monostrato essiccato usato in modo specifico come controlli (vedi figura 1 della Metodica). Il pozzetto numero 15 è un controllo positivo costituito da membrane di emazie coattate e sensibilizzate con IgG. Il pozzetto numero 16 è utilizzato come controllo negativo.

Capture-R Ready-ID Extend consiste in strip di 2 x 8 pozzetti a cui sono adese le membrane essiccate di 14 donatori di gruppo O. Le emazie del pannello Capture-R

Key:

Underline = Addition or significant change; ▲ = Deletion of text

Ready-ID Extend I vengono scelte in modo da esprimere gli antigeni più frequentemente ereditati e non esprimono gli antigeni c ed e. Le emazie del pannello Capture-R Ready-ID Extend II vengono scelte in modo da esprimere gli antigeni più frequentemente ereditati e ad eccezione di una cellula, non esprimono l'antigene D. Le strip di Capture-R Ready-ID Extend contengono, inoltre, due pozzetti con un monostrato essiccato usato in modo specifico come controlli (vedi figura 1 della Metodica). Il pozzetto numero 15 è un controllo positivo costituito da membrane di emazie coattate e sensibilizzate con IgG, il pozzetto numero 16 è utilizzato come controllo negativo.

Ciascuno strip è pronto per l'uso. Gli strip possono essere utilizzati singolarmente o insieme. Conservare gli strip a 1-30°C (in frigorifero o a temperatura ambiente) quando non in uso. Se l'indicatore inserito nella busta rivela presenza di umidità (virando da blu a rosa), gli strip non possono venire utilizzati. Gli strip non utilizzati, insieme all'essiccante e all'indicatore di umidità dovrebbero venire immediatamente risigillati nella busta per evitare l'esposizione all'umidità che può distruggere la membrana delle emazie. Gli strip in buste risigillate, non dovrebbero venire utilizzati se l'indicatore rivela presenza di umidità. **Gli strip tolti dalla busta devono venire utilizzati entro otto ore.**

Do not use Capture Test Wells if humidity indicator turns from blue to pink.

Non utilizzare i pozzetti Capture se l'indicatore di umidità vira da azzurro a rosa.

After opening pouch store unused strip wells in sealed pouch with desiccant and moisture indicator.

Dopo aver aperto la busta conservare le strip non utilizzate nella stessa busta sigillata con l'essiccante e l'indicatore di umidità

2. Master List fornita con ciascun lotto di Capture-R Ready-ID e Capture-R Ready-ID Extend indica il codice e la composizione antigenica di ciascun donatore le cui emazie siano state utilizzate per preparare il monostrato essiccato.

Reagenti Aggiuntivi:

1. **Capture LISS:** soluzione a bassa forza ionica contenente glicina, tintura viola di bromocresolo e sodio azide (0.1%) *come conservante. Conservare a 1-10°C
2. **Capture-R Ready Indicator Red Cells:** sospensione di emazie sensibilizzate con anti siero monoclonale murino anti-IgG umane. Il reagente è risospeso in soluzione conservante tamponata con cloramfenicolo (0.25 mg/mL), neomicina solfato (0.1 mg/mL) e gentamicina solfato (0.05 mg/mL) come conservanti. Conservare a 1-10°C.

Reagenti opzionali da utilizzare con strip Capture

1. **Capture-R Positive Control Serum (Weak):** contiene anticorpi anti-emazie. Sodio azide(0.1%) è aggiunta come conservante*. Conservare a 1-10°C.
2. **Capture-R Negative Control Serum:** non contiene anticorpi anti-emazie. Sodio azide(0.1%) è aggiunta come conservante*. Conservare a 1-10°C.

Precauzioni:

1. Per uso diagnostico in vitro.
- 2.



* Il reagente contiene sodio azide 0.1% ed è classificato come Nocivo (Xn). R22 Nocivo per ingestione.

La sodio azide può reagire con piombo e rame di scarichi idraulici formando composti esplosivi. Se il reagente è versato nei lavelli sciacquare con abbondante flusso d'acqua per prevenire l'accumulo di azide.

3. Non previsto l'uso su ABS2000.

4. Tutti i reagenti Capture-R Ready-Screen e Capture-R Ready-ID devono essere portati a 18-30°C prima dell'uso

5. Capture-R Ready Indicator Red Cells devono venire risospese delicatamente prima dell'uso invertendo ciascun flacone per diverse volte. E' normale che le emazie aggregino durante la conservazione a 1-10°C. Capture-R Ready Indicator Red Cells non dovrebbero venire utilizzate se assumono colore scuro, da rosso a marrone, se compare significativa emolisi, o se le emazie non producono il risultato atteso nei pozzetti di controllo negativo e positivo. Con l'avvicinarsi della data di scadenza è possibile osservare una leggera emolisi

6. L'evidenza di torbidità di Capture LISS e dei Controlli può essere indicazione di contaminazione batterica. I reagenti contaminati non dovrebbero essere utilizzati.

7. Non utilizzare oltre la data di scadenza. Non devono essere utilizzati flaconi che sgocciolano

8. La data di scadenza è espressa nel seguente formato CCAA-MM-GG (anno-mese-giorno).

9. Maneggiare ed eliminare il reagente considerandolo come potenzialmente infettivo

CAUTION: ALL BLOOD PRODUCTS SHOULD BE TREATED AS POTENTIALLY INFECTIOUS. SOURCE MATERIAL FROM WHICH THIS PRODUCT WAS DERIVED WAS FOUND NEGATIVE WHEN TESTED IN ACCORDANCE WITH CURRENT FDA REQUIRED TESTS. NO KNOWN TEST METHODS CAN OFFER ASSURANCE THAT PRODUCTS DERIVED FROM HUMAN BLOOD WILL NOT TRANSMIT INFECTIOUS AGENTS.

ATTENZIONE: TUTTI I PRODOTTI DI ORIGINE EMATICA VANNO TRATTATI COME POTENZIALMENTE INFETTIVI. IL MATERIALE ORIGINALE DA CUI DERIVA QUESTO PRODOTTO È STATO TROVATO NEGATIVO QUANDO TESTATO CON I TEST RICHIESTI DALLE DIRETTIVE FDA CORRENTI. NESSUN TEST CONOSCIUTO PUÒ ASSICURARE CHE PRODOTTI DERIVATI DA SANGUE UMANO NON POSSANO TRASMETTERE AGENTI INFETTIVI.

Raccolta e preparazione dei campioni:

Plasma o siero: Prelevare i campioni di sangue utilizzando tecniche accettabili. Si può utilizzare siero fresco o plasma (EDTA, ACD, CPD, CPDA-1, CP2D). Tutti i test dovrebbero essere eseguiti appena possibile dopo il prelievo, per minimizzare la possibilità di ottenimento di risultati falsamente positivi o negativi dovuti a conservazione non appropriata o a contaminazione dei campioni. I campioni che non possono venire testati entro 24 ore dal prelievo, vanno conservati a 1-10°C. In alternativa il siero/plasma può venire separato dalle emazie e congelato. Anticorpi debolmente reattivi potrebbero deteriorarsi e diventare non più evidenziabili in campioni conservati a temperatura ambiente per diversi giorni, o a 1-10°C per un lungo periodo. Non testare campioni raccolti in provette contenenti gel-separatore. Questi campioni potrebbero dare risultati falsamente positivi.

Procedura:

A. Materiali Forniti:

1. Strip Capture-R Ready-ID in buste risigillabili, o
2. Strip Capture-R Ready-ID Extend in buste risigillabili

B. Materiale richiesto ma non fornito con le strip:

1. Capture LISS in flaconi con gocciolatore
2. Capture-R Ready Indicator Red Cells in flaconi con gocciolatore

C. Reagenti ad uso opzionale, non forniti con le strip

1. Capture-R Positive Control Serum (Weak) in flaconi con gocciolatore
2. Capture-R Negative Control Serum in flaconi con gocciolatore

D. Materiale richiesto per l'esecuzione in manuale o semi-automatico:

1. Plasma di donatori o pazienti
2. Timer
3. Superficie illuminata
4. Pennarelli indelebili
5. Pipette per uso manuale o sistema di dispensazione*
6. Centrifuga* con rotore in grado di centrifugare piastre con strip da 2 x 8 pozzetti
7. Incubatore a secco a 37 C o blocchi riscaldanti
8. Soluzione fisiologica tamponata con tampone fosfato (approssimativamente 15 mM), a pH 6.5-7.5
9. Lavatore semi-automatico o "spruzzatore" o pipetta multicanale
10. Pipettatore adatto a micropozzetti
11. Strip vuoti di bilanciamento
12. Lettore per micropiastre* (opzionale)

E. Materiale richiesto per l'esecuzione in completa automazione

Per eseguire i test in completa automazione, fare riferimento alle istruzioni fornite nel manuale operativo specifico per lo strumento in uso.

Key:

Underline = Addition or significant change; ▲ = Deletion of text

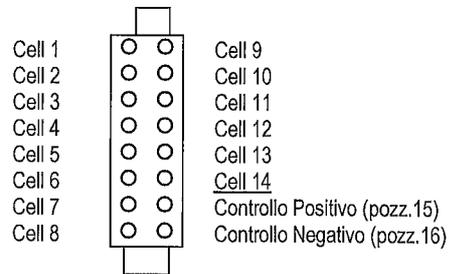
* E' responsabilità dell'utilizzatore validare uno strumento accessorio (sia indicato che non) per l'uso richiesto. I risultati della validazione vanno conservati nei registri di laboratorio per successivi controlli.

Metodica:

Metodica manuale o semi-automatica:

1. Portare tutti i reagenti a 18-30 C prima dell'esecuzione del test.
2. Togliere una piastra di Capture-R Ready-ID o Capture-R Ready-ID Extend dalla busta protettiva. Controllare l'indicatore di umidità inserito nella busta. Se l'indicatore rileva presenza di umidità, nessuna delle strip presenti nella busta dovrebbe essere utilizzata. In assenza di umidità, riposizionare gli strip non utilizzati nella busta insieme all'essiccante e all'indicatore di umidità, facendo attenzione a richiudere bene la busta stessa.
3. Controllare il codice stampigliato sulla linguetta di ciascuno strip. Non utilizzarli in caso di mancanza di codice identificativo del test (RID) e del numero di lotto leggibile ad occhio nudo. La disposizione delle emazie corrisponde alle indicazioni in Fig. 1 .
4. Sistemare gli strip in un supporto. Nota: gli strip si inseriscono nel supporto solo nella direzione corretta.
5. Dispensare 2 gocce (100 +/- 10 ul) di Capture LISS in ciascun pozzetto.

Fig 1. Capture-R Ready-ID and Extend Strip



Nota: L'uso di sieri di controllo commerciali è opzionale. E' raccomandata l'aggiunta di siero o plasma del campione nel pozzetto di controllo numero 15, ma non nel pozzetto 16 (rimpiazzando l'uso di sieri di controllo commerciali). Per seguire questa raccomandazione, eseguire la metodica fino allo step 6 passando subito al 9, senza eseguire gli step 7 e 8. In particolare, per utilizzare i sieri di controllo commerciali, eseguire la procedura alternativa indicata allo step 6.

6. Dispensare 1 goccia (50 ± 5 uL) di plasma o siero del paziente nei pozzetti dall' 1 al 15 e passare allo step 9 (procedura raccomandata).

Procedura alternativa: per utilizzare i sieri commerciali di controllo, dispensare 1 goccia (50 ± 5 uL) di plasma o siero del paziente nei pozzetti dall' 1 al 14 e passare allo step 7.

NOTA: Il colore viola del LISS vira al blu-turchese in presenza di siero o plasma. La persistenza del colore viola potrebbe indicare che non è stato dispensato il campione nel pozzetto.

7. Dispensare 1 goccia (50 ± 5 uL) di Capture-R Positive Control Serum (Weak) nel pozzetto previsto (Vedi Fig 1)
8. Dispensare 1 goccia (50 ± 5 uL) di Capture-R Negative Control Serum nel pozzetto previsto (Vedi Fig 1).
9. Incubare gli strip a 36-38 C per non meno di 15 minuti e non più di 60 minuti. Aggiungere 5 minuti di incubazione se si utilizza un incubatore a secco.
10. Decantare o aspirare la miscela LISS-campione dal pozzetto e lavare i pozzetti stessi utilizzando un sistema manuale o un lavatore automatico
 - a) Lavaggio manuale
 - i) Decantare il liquido dai pozzetti
 - ii) Riempire i pozzetti con fisiologica dispensata con una pipette multicanale o con un dispensatore adatto a micropiastre. In alternativa, si può utilizzare anche una bottiglia di fisiologica con spruzzatore. La fisiologica non va aggiunta con forza eccessiva per evitare che il monostrato di emazie si rovini.
 - iii) Decantare i pozzetti invertendoli manualmente su un lavandino o un contenitore di scarico e cercare di eliminare completamente il liquido con movimenti rapidi del polso.
 - iv) Lavare i pozzetti almeno sei volte con fisiologica.

- b. Lavatore semi-automatico

Per l'utilizzo di lavatori semi-automatici, fare riferimento alle istruzioni fornite nel manuale specifico per il lavatore in uso.

NOTA: I lavatori automatici devono essere tarati in modo che in ciascun pozzetto rimangano circa 4-8 ul di fisiologica, dopo l'aspirazione. Non bisogna aspirare nei pozzetti tanto da renderli completamente asciutti.

11. Dispensare 1 goccia (50 +/- 5 ul) di Capture-R Ready Indicator Red Cells in ciascun pozzetto
12. Centrifugare immediatamente gli strip per 1-3 minuti a 450-600 x g.
NOTA: Il numero di g e il tempo di centrifugazione indicati sono un'approssimazione delle condizioni necessarie per produrre il grado desiderato di adesione. La velocità e il tempo di centrifugazione più adatti, devono essere determinati individualmente per ogni centrifuga utilizzata.
13. Sistemare gli strip su una superficie illuminata (o su un lettore di micropiastre accessorio) e controllare la presenza o meno dell'adesione delle Indicator Red Cells. Per considerare validi i risultati del test il pozzetto di controllo positivo eseguito con ciascun campione, deve mostrare l'adesione delle Capture-R Ready Indicator Red Cells a tutta o parte la superficie di reazione e il controllo negativo deve avere l'aspetto di un bottone di Capture-R Ready Indicator Red Cells sul fondo del pozzetto senza aree di adesione. Se non si ottengono risultati corretti con i sieri Capture-R Control, i risultati dei test potrebbero essere invalidi e devono quindi essere ripetuti

Metodica in completa automazione

Per eseguire i test in completa automazione, fare riferimento alle istruzioni fornite nel manuale operativo specifico per lo strumento in uso

Stabilità della Reazione:

Dopo la centrifugazione, i test eseguiti manualmente o con sistema semiautomatico, possono venire letti immediatamente. E' possibile coprire i pozzetti dopo la centrifugazione per evitare l'evaporazione, conservarli a 1-10°C e leggerli o ri-leggerli manualmente fino a 2 giorni dopo l'esecuzione del test.

Controllo di Qualità:

Per ciascun test Capture-R Ready-ID o Capture-R Ready-ID Extend vengono eseguiti sia un controllo positivo (membrane di emazie coattate e sensibilizzate con IgG) che un controllo negativo. Per ogni test eseguito e considerato valido, il controllo positivo deve mostrare l'adesione delle Capture-R Ready Indicator Red Cells a tutta o parte la superficie di reazione e il controllo negativo deve avere l'aspetto di un bottone di Capture-R Ready Indicator Red Cells sul fondo del pozzetto senza aree di adesione. Il continuo ottenimento di risultati non corretti con i Controlli, anche sulle ripetizioni del test, possono essere il segnale di deterioramento di uno o più dei reagenti Capture-R Ready-ID o Capture-R Ready-ID Extend, o di errori ripetuti nell'esecuzione della metodica.

Interpretazione dei Risultati:

Test negativo: bottone di Capture-R Ready Indicator Red Cells sul fondo del pozzetto senza aree di adesione.

Test positivo: adesione delle Capture-R Ready Indicator Red Cells a parte o a tutta la superficie di reazione.

Gli anticorpi che non vengono identificati utilizzando Capture-R Ready-ID potrebbero venire identificati con Capture-R Ready-ID Extend, sistema in fase solida che utilizza membrane essiccate di 14 diversi donatori e/o mediante Capture-R Select, sistema in fase solida che può essere utilizzato con tutte le emazie del commercio.

La seguente procedura può essere intesa come linea guida per la determinazione della/delle specificità anticorpali, per facilitarne l'identificazione. La determinazione della specificità anticorpale dovrebbe comunque essere eseguita seguendo le linee guida, gli standard e le procedure già in uso nel laboratorio e nel luogo di riferimento:

1. Cancellare tutti gli antigeni presenti sulle emazie del pannello che non reagiscono con il campione di siero/plasma, tirando una riga sui singoli antigeni indicati in cima alla Master List.
2. Confrontare la sequenza di reazioni positive con i profili antigenici non cancellati nel passaggio 1.
 - a. Se solo un antigene rimane dopo aver eliminato quelli presenti sulle emazie non reattive, e la sequenza relativa a quel particolare antigene corrisponde con la sequenza ottenuta, la specificità è identificata.
 - b. Se rimane più di un antigene, sono necessari ulteriori passaggi per identificare la miscela anticorpale presente. (Vedere passaggi 3 e 4)
 - c. Risultati positivi e negativi che non corrispondono a nessuna delle sequenze antigeniche presenti sulla Master List indicano la presenza di una miscela di anticorpi o di anticorpi verso antigeni non identificabili.
3. Se si sospetta la presenza di più di un anticorpo, verificare la forza delle singole reazioni ottenute.

4. Testare le emazie del paziente o del donatore per gli antigeni corrispondenti ai possibili anticorpi identificati.

Limiti del metodo:

1. Risultati non attendibili possono essere dovuti a contaminazione batterica o chimica dei reagenti in uso, a tempi non corretti di incubazione, a centrifugazione non adeguata, a lavaggio insufficiente o eccessivo dei pozzetti, o ad omissione di qualche passaggio della metodica.
2. La contaminazione delle Capture-R Ready Indicator Red Cells con siero o plasma contenenti IgG neutralizzeranno la componente anti-IgG delle Capture-R Ready Indicator Red Cells, causando l'ottenimento di risultati falsamente negativi. Un risultato diverso dall'atteso ottenuto nel pozzetto del controllo positivo è indice della neutralizzazione delle emazie indicatrici.
3. Centrifugazione eccessiva dei test manuale o semiautomatico, a seguito dell'aggiunta delle Capture-R Ready Indicator Red Cells, può causare risultati falsamente negativi o reazioni positive dubbie legate al distacco delle emazie indicatrici dal monostrato di adesione. Una centrifugazione troppo debole, porta all'ottenimento di risultati falsamente positivi.
4. Esempi di anticorpi appartenenti esclusivamente alla sottoclasse IgG4 potrebbero non essere evidenziati dalle Capture-R Ready Indicator Red Cells. Anticorpi esclusivamente di classe IgG4 sono, peraltro, molto rari.
5. I parametri di frenata della centrifuga in uso possono avere effetto sul risultato del test. L'assenza di un meccanismo di frenata e i conseguenti lunghi tempi di decelerazione, possono portare a risultati falsamente negativi. Al contrario, tempi di decelerazione troppo brevi causano anch'essi, risultati non corretti. E' responsabilità dell'utilizzatore valutare la funzionalità della centrifuga in uso per identificare i parametri ottimali in velocità, tempi e settaggi di accelerazione/decelerazione. I risultati della validazione vanno conservati nei registri di laboratorio per successivi controlli.
6. Siero o plasma raccolto in provette contenenti separatori in gel, potrebbero portare a risultati falsamente positivi nei test di ricerca anticorpale. Le provette contenenti separatori in gel non sono adatte a campioni in uso presso i centri trasfusionali.
7. La reattività delle emazie di Capture-R Ready-ID e Capture-R Ready-ID Extend diminuisce durante il periodo di validità. Il grado di perdita di reattività è in parte dovuto alle caratteristiche individuali del donatore che non possono essere né previste né controllate.
8. L'aggiunta di Capture-R Ready Indicator Red Cells in eccesso rispetto al volume riportato nell'insero può provocare reazioni falsamente negative o dubbie.
9. La dispensazione di un volume di emazie indicatrici minore rispetto a quello richiesto, come può accadere in caso di miscelazione insufficiente del reagente prima della dispensazione o in caso di emolisi, porterà a reazioni falsamente positive. Emazie indicatrici utilizzate ad una temperatura minore di 18° C daranno reazioni debolmente positive.
10. La soluzione a bassa forza ionica (LISS) aumenta diverse reazioni antigene-anticorpo. Comunque, alcuni sieri potrebbero contenere anticorpi che non reagiscono in maniera ottimale in metodiche in cui si utilizzi il LISS, compreso il test Capture-R Ready-Screen.
11. Anticorpi quali anti-M, -P₁, -Le^a e -Le^b reagiscono più frequentemente in test di emoagglutinazione in provetta a temperatura ambiente rispetto al test eseguito a 37°C con siero antiglobuline. Questo è stato interpretato come indicazione della presenza di questi anticorpi soprattutto come IgM reattive in fisiologica. Alcuni esempi di questi anticorpi possono essere evidenziati dai test Capture-R, nonostante il sistema sia studiato soprattutto per l'evidenziazione delle IgG. Alcuni di questi vengono evidenziati dalle Capture-R Ready Indicator Red Cells poiché contengono una componente IgG. Altri vengono evidenziati non perché siano IgG ma perché le emazie indicatrici posseggono l'antigene verso cui le IgM sono dirette. Alcune IgM legano le emazie indicatrici al monostrato formando un ponte tramite il legame agli antigeni sulle due membrane cellulari. Quindi, per alcuni esempi di anti-M, -Le^a, -Le^b, -P₁, etc evidenziati dai test Capture-R, sono necessari approfondimenti prima di diagnosticare la classe IgG di appartenenza. Queste specificità anticorpali sono considerate non clinicamente significative nella maggior parte delle patologie. I casi di anticorpi, con queste specificità, rivelati da test Capture-R, non sono necessariamente più significativi di anticorpi con le stesse specificità che non vengono evidenziati dallo stesso test. Anticorpi clinicamente significativi presenti nei campioni solo come classe IgM (es. IgM anti-K or IgM anti-E) potrebbero non essere evidenziati da questo test.
12. Alcuni anticorpi di classe IgG non reagiscono in modo ottimale nei test in fase solida. Alcuni esempi di questi ultimi sono: Bg^a, Bg^b, Kn^a, Cs^a, Yk^a, JM^H, McC^a, Ch e Rg.^{7,8} Esempi di altri anticorpi deboli clinicamente significativi, come gli anti-D da immunoprofilassi, potrebbero non essere evidenziati con Capture-R Ready-Screen, ma con altre metodiche. **NESSUNA METODICA E' IN GRADO DI EVIDENZIARE QUALSIASI ANTICORPO.**
13. Le emazie del pannello Capture-R Ready-ID sono selezionate per il possesso degli antigeni contro cui più frequentemente si trovano anticorpi. Non posseggono

Key:

Underline = Addition or significant change; ▲ = Deletion of text

- tutti i determinanti possibili. E' possibile che alcuni campioni di siero contengano anticorpi contro antigeni non presenti sulle emazie del pannello.
14. Le emazie del pannello Capture-R Ready-ID Extend sono selezionate per facilitare la determinazione e l'identificazione di anticorpi non facilmente identificabili con il pannello Capture-R Ready-ID. Il pannello Capture-R Ready-ID Extend I esprime tutti gli antigeni più frequentemente immunogeni tranne -e e -c. Il pannello Capture-R Ready-ID Extend II esprime gli antigeni più frequentemente immunogeni ma, tranne su una cellula, non esprime l'antigene D. Poiché i due pannelli Extend non esprimono tutti gli antigeni eritrocitari noti, non possono essere utilizzati come unico mezzo di identificazione anticorpale.
 15. Confrontando le reazioni osservate per un anticorpo non noto, con la composizione antigenica di ciascuna cellula, si risale alla specificità dell'anticorpo stesso attraverso un processo di eliminazione. Una sequenza di reazioni che non identifichi una specificità, può essere di indicazione del fatto che più di un anticorpo sia coinvolto. L'assenza di una sequenza definita di reazioni, può segnalare la presenza di un anticorpo debolmente reattivo in grado di essere evidenziato da alcune, ma non da tutte le emazie positive per l'antigene corrispondente.
 16. Le emazie utilizzate per il pannello esprimono antigeni non definiti dal produttore. E' quindi possibile ottenere reazioni positive che non corrispondano a nessun profilo antigenico presentato sulla Master List.
 17. Il patrimonio genetico delle emazie del pannello il cui fenotipo è Fy(a+b-), Fy(a-b+), Jk(a+b-), Jk(a-b+), M+N-, M-N+, S+s- o S-s+ non è noto. Per queste emazie si assume l'omozigosi ma, in effetti, potrebbero essere prelevate da donatori geneticamente eterozigoti per il gene corrispondente.⁴ Nessun test sierologico è stato messo a punto per dimostrare che le emazie apparentemente omozigoti utilizzate per Capture-R Ready-ID o Capture-R Ready-ID Extend esprimano una doppia dose di ciascuno di questi antigeni.⁸
 18. Si otterranno reazioni negative in presenza di anticorpi presenti in concentrazione troppo bassa da essere evidenziata con la metodica in uso.⁸
 19. Fisiologica acida o non tamponata utilizzata per i lavaggi dei pozzetti prima dell'aggiunta di Indicator Red Cells, può causare l'indebolimento delle reazioni antigene-anticorpo. I risultati migliori si ottengono con fisiologica tamponata a pH 6.5-7.5⁹
 20. Si possono ottenere risultati non corretti con Capture-R Ready-ID o Capture-R Ready-ID Extend se il personale non viene adeguatamente istruito all'utilizzo della metodica Capture-R Ready-Screen. E' necessario che il laboratorio organizzi un adeguato periodo di training per il personale. Dopo il periodo di istruzione per il personale, è necessario eseguire alcune prove in doppio, con il sistema precedentemente in uso presso il laboratorio, per la ricerca anticorpale (utilizzando una serie di campioni noti positivi e negativi) al fine di documentare che si ottengano risultati attendibili

Caratteristiche Operative Specifiche:

Sono state eseguite valutazioni cliniche su 7,000 campioni, da parte di cinque laboratori separati, e si è dimostrato che Capture-R Ready-Screen e Capture-R Ready-ID sono in grado di evidenziare gli anticorpi clinicamente significativi di classe IgG. Ciascun laboratorio ha testato plasma/siero in parallelo con il sistema in emoagglutinazione di riferimento. Capture-R Ready-Screen e Capture-R Ready-ID hanno dimostrato di evidenziare anticorpi di classe IgG nei sistemi Rh, MNS, K, Fy, Jk, P₁, Lu, Xg, Co, e I. Gli anticorpi di classe IgG non evidenziati, sono elencati nel paragrafo "Limiti del metodo". Alcuni campioni di plasma/siero di pazienti e donatori erano reattivi solo con Capture-R Ready-Screen e non con il sistema di emoagglutinazione di riferimento. La maggior parte di questi campioni contenevano autoanticorpi rilevati solo in fase solida.

Prima della produzione, le emazie di ciascun donatore dei pannelli Capture-R Ready-ID e Ready-ID Extend, vengono testate da due laboratori separatamente, che utilizzino non meno di due antisieri da due diverse sorgenti (eccetto per quegli antigeni per cui gli antisieri corrispondenti sono rarissimi) per confermare la presenza o l'assenza di tutti gli antigeni gruppo specifici specificati in ciascuna Master List. Tutte le emazie sono testate e sono negative nei test diretto all'antiglobulina eseguito con un siero anti globuline umane polispecifico.

Ulteriori informazioni possono essere ottenute contattando l'Immuco's Technical Service al 800-492- BLUD (2583) o 770-441-2051.

Capture-R Ready-ID e Ready-ID Extend rispondono ai requisiti stabiliti dalla FDA per le emazie utilizzate nella ricerca di anticorpi irregolari. Non esiste standard US di potenza per questo reagente.

La data di scadenza di Capture-R Ready-ID e Ready-ID Extend è fissata a 120 giorni dalla data di produzione, che è la prima data di prelievo dai donatori utilizzati per le componenti del reagente.

Bibliografia:

Key:

Underline = Addition or significant change; ▲ = Deletion of text

1. Boral LI, Henry JB. The type and screen: a safe alternative and supplement in selected surgical procedures. *Transfusion* 1977;17:163.
2. Giblett ER. Blood group alloantibodies: an assessment of laboratory practices. *Transfusion* 1977;17:299.
3. Roualt CL. Appropriate pretransfusion testing, In: *Pretransfusion testing for the '80's*. Washington DC: American Association of Blood Banks, 1980:125.
4. Brecher ME, ed. Technical manual. 15th ed. Bethesda MD: AABB, 2005.
5. Plapp FV, Sinor LT, Rachel JM et al. A solid phase antibody screen. *Am J Clin Pathol* 1984;82:719.
6. Juji T, Kano K, Milgrom F. Mixed agglutination with platelets. *Int Arch Allergy* 1972;42:474.
7. Beck ML, Rachel JM, Sinor LT et al. Semiautomated solid phase adherence assays for pretransfusion testing. *Med Lab Sci* 1984;41:374.
8. Rolih SD, Eisinger RW, Moheng MC et al. Solid phase adherence assays: alternatives to conventional blood bank tests. *Lab Med* 1985;16:766.
9. Rolih S, Thomas R, Fisher F et al. Antibody detection errors due to acidic or unbuffered saline. *Immunohematology* 1993;9:15.

US License 886



Insert code 369it-5
Rev 9/10