



REAGENTI MONOCLONALI PER LA DETERMINAZIONE DEL GRUPPO SANGUIGNO  
ISTRUZIONI PER L'USO

**Anti-Le<sup>b</sup> Monoclonal:** Per tecnica in provetta.

### RIEPILOGO

Gli antigeni del sistema Lewis non sono parte integrante della membrana eritrocitaria, sono prodotti dalle cellule tissutali e si trovano principalmente nel plasma e nelle secrezioni acquose. Gli eritrociti acquisiscono gli antigeni di Lewis tramite adsorbimento dal plasma circostante. La quantità di antigene di Lewis espresso su una cellula può variare con il fenotipo ABO della cellula. Anti-Le<sup>a</sup> e Anti-Le<sup>b</sup> non sono stati associati alla Malattia emolitica del neonato.

Anti-Le <sup>a</sup>	Anti-Le <sup>b</sup>	Fenotipo	Caucasici <sup>1</sup>	Afroamericani <sup>1</sup>
+	0	Le(a+b-)	22%	23%
0	+	Le(a-b+)	72%	55%
0	0	Le(a-b)	6%	22%
+	+	Le(a+b+)	Raro	Raro

### USO PREVISTO

Questo reagente per la determinazione del gruppo sanguigno è destinato ad essere utilizzato per determinare qualitativamente la presenza o l'assenza degli antigeni Le<sup>b</sup> (LE2) sugli eritrociti dei donatori di sangue o dei pazienti che necessitano di una trasfusione sanguigna, se analizzati secondo le tecniche raccomandate indicate nelle presenti istruzioni per l'uso.

### Principio

Il reagente contiene anticorpi contro l'antigene Le<sup>b</sup> presente sugli eritrociti umani e, dopo la centrifugazione, causa l'agglutinazione (formazione di aggregati) diretta degli eritrociti che trasportano l'antigene Le<sup>b</sup>. L'assenza di agglutinazione (mancata formazione di aggregati) in genere indica l'assenza dell'antigene Le<sup>b</sup> (vedere **Limitazioni**).

### REAGENTI

Il reagente Lorne Monoclonal Anti-Le<sup>b</sup> per la determinazione del gruppo sanguigno contiene anticorpi IgM monoclonali di topo, diluiti in un tampone fosfato contenente cloruro di sodio, EDTA, albumina bovina e potenziatori macromolecolari (10,0 g%). Anti-Le<sup>b</sup> è prodotto con Clone LEB2. Il reagente non contiene né comprende sostanze CMR, o sostanze che alterano il sistema endocrino o che potrebbero provocare una sensibilizzazione o una reazione allergica nell'utilizzatore. Il reagente viene fornito alla diluizione ottimale per l'uso con tutte le tecniche raccomandate indicate di seguito senza la necessità di ulteriori diluizioni o aggiunte. Per il numero di riferimento del lotto e la data di scadenza vedere **Etichetta della fiala**.

### CONSERVAZIONE

Conservare le fiale di reagente a 2-8°C dal momento della ricezione. La conservazione prolungata a temperature al di fuori di questo intervallo può provocare una perdita accelerata della reattività del reagente. Questo reagente è stato sottoposto a studi di stabilità al trasporto a 37°C e -25°C come descritto nel documento BS EN ISO 23640:2015.

### RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

I campioni di sangue possono essere raccolti in anticoagulanti EDTA, citrato, CPDA o come campione coagulato. Analizzare i campioni il prima possibile dopo aver effettuato la raccolta. In caso di ritardo nei test, conservare i campioni a 2-8°C. I campioni che presentano evidente emolisi o contaminazione microbica non devono essere utilizzati per i test. I campioni di sangue che mostrano segni di lisi possono dare risultati non attendibili. È indispensabile (vedere la sezione "Limitazioni") lavare tutti i campioni di sangue con tampone fosfato salino (PBS) o soluzione salina isotonica prima di analizzarli.

### PRECAUZIONI

- Il reagente è destinato esclusivamente all'uso diagnostico *in vitro*.
- Se una fiala di reagente presenta crepe o perdite, gettare via il contenuto immediatamente.
- Non usare i reagenti dopo la data di scadenza (vedere **Etichetta della fiala**).
- Non usare i reagenti se è presente un precipitato.
- Quando si maneggiano i reagenti, indossare indumenti protettivi quali guanti monouso e un camice da laboratorio.
- Il reagente è stato filtrato attraverso una capsula da 0,2 µm per ridurre la carica batterica, ma non viene fornito sterile. Dopo l'apertura di una fiala, il contenuto rimane vitale fino alla data di scadenza, a condizione che non vi sia una torbidità marcata, che può indicare il deterioramento o la contaminazione del reagente.
- Il reagente contiene <0,1% di azoturo di sodio. L'azoturo di sodio può risultare tossico se ingerito e può reagire con le tubature in piombo o rame fino a formare azoturi metallici esplosivi. Per lo smaltimento sciacquare con grandi volumi di acqua.
- Nessun test noto può garantire che i prodotti derivati da fonti umane o animali siano privi di agenti infettivi. È necessario prestare attenzione durante l'uso e lo smaltimento di ciascuna fiala e del suo contenuto.

### SMALTIMENTO DEL REAGENTE E GESTIONE DELLE FUORIUSCITE

Per informazioni sullo smaltimento del reagente e sulla decontaminazione di un sito di fuoriuscita, vedere le **Schede di dati di sicurezza dei materiali**, disponibili su richiesta.

### CONTROLLI E CONSIGLI

- Si raccomanda di analizzare un controllo positivo e uno negativo in parallelo con ogni lotto dei test. I test devono essere considerati non validi se i controlli non mostrano i risultati previsti.
- Durante la tipizzazione degli eritrociti di un paziente con diagnosi di una malattia per la quale gli eritrociti vengono rivestiti da anticorpi o altre proteine (quali HDN, AIHA), è importante analizzare gli eritrociti del paziente mediante il controllo negativo del reagente di Lorne (Monoclonal Rh Control (catalogo 640010)).
- Prima dell'uso, far riscaldare il reagente fino a temperatura ambiente. Dopo aver utilizzato il reagente, riporlo nel luogo di conservazione a 2-8°C.
- Nella **Tecnica in provetta** un volume è di circa 50µl se si usa la fiala contagocce fornita.
- L'uso del reagente e l'interpretazione dei risultati devono essere eseguiti da personale adeguatamente formato e qualificato in conformità ai requisiti del paese in cui il reagente è in uso.
- L'utilizzatore deve stabilire l'idoneità del reagente per l'uso in altre tecniche.

### REAGENTI E MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

- Provette in vetro (10 x 75 mm o 12 x 75 mm).
- Soluzione di PBS (pH 6.8-7.2) o soluzione salina isotonica (pH 6.5-7.5).
- Eritrociti di controllo positivo e negativo: Le(b+) (controllo positivo) e Le(b-) (controllo negativo).
- Centrifuga per provette.
- Pipette volumetriche.

### TECNICA RACCOMANDATA

#### A. Tecnica in provetta

- Preparare una sospensione di eritrociti lavati al 2-5% in PBS o soluzione salina isotonica.
- Inserire in una provetta etichettata: 1 volume di reagente Lorne Anti-Le<sup>b</sup> e 1 volume di sospensione di eritrociti.
- Miscelare accuratamente e incubare a temperatura ambiente per 15 minuti.
- Centrifugare tutte le provette per 20 secondi a 1000 rcf o per un tempo e una forza alternativi adeguati.
- Risospingere delicatamente il sedimento eritrocitario e procedere alla lettura macroscopica dell'agglutinazione.

### INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI DEL TEST

- Positivo:** L'agglutinazione degli eritrociti costituisce un risultato positivo del test e, entro i limiti accettati della procedura di test, indica la presenza dell'antigene b di Lewis sugli eritrociti.
- Negativo:** L'assenza di agglutinazione degli eritrociti costituisce un risultato negativo e, entro i limiti accettati della procedura di test, indica l'assenza dell'antigene b di Lewis sugli eritrociti.
- Controllo:** Sono da escludere i risultati del test delle cellule agglutinate mediante il controllo negativo del reagente, in quanto l'agglutinazione è causata molto probabilmente dall'effetto dei potenziatori macromolecolari nel reagente sulle cellule sensibilizzate.

### STABILITÀ DELLE REAZIONI

- Effettuare la lettura dei test immediatamente dopo la centrifugazione. Eventuali ritardi possono dare origine alla dissociazione dei complessi antigene-anticorpo con conseguenti reazioni false negative o deboli positive.
- Occorre prestare attenzione nell'interpretazione dei risultati dei test effettuati a temperature diverse da quelle raccomandate.

### LIMITAZIONI

- Il reagente Lorne Anti-Le<sup>b</sup> deve essere utilizzato solo con eritrociti lavati sospesi in PBS o soluzione salina fisiologica, poiché gli antigeni di Lewis sono presenti nel plasma. Le cellule sospese nel plasma/siero **non possono** essere utilizzate, in quanto l'antigene solubile presente può neutralizzare il reagente di test, dando risultati falsi negativi.
- Possono verificarsi reazioni più deboli quando Anti-Le<sup>b</sup> viene testato contro gli eritrociti A<sub>1</sub> o A<sub>1</sub>B Le(b+), poiché la quantità di antigene di Lewis espresso su una cellula può variare con il fenotipo ABO della cellula.
- Gli eritrociti della maggior parte dei neonati tipizzeranno Le(a-b-) con reagenti anti-Lewis monoclonali o umani.
- Non è possibile determinare con precisione i fenotipi di Lewis in bambini di età inferiore ai sei anni. Gli antigeni di Lewis eritrocitari sono più deboli

- durante la gravidanza e alcune donne con eritrociti di fenotipo Le(a-b+) possono tipizzare come Le(a-b-) in stato di gravidanza.
5. Il sangue conservato può dare reazioni più deboli rispetto al sangue fresco
  6. I risultati falsi positivi o falsi negativi possono verificarsi anche a causa di:
    - Contaminazione dei materiali dei test
    - Errata conservazione, concentrazione cellulare, tempo o temperatura di incubazione
    - Errata o eccessiva centrifugazione
    - Scostamento dalle tecniche raccomandate

### CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI SPECIFICHE

1. Prima del rilascio, ogni lotto di reagente è stato testato utilizzando i metodi di analisi raccomandati elencati nelle presenti istruzioni per l'uso. I test sono risultati conformi ai requisiti di analisi indicati nella versione/edizione attuale delle "Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom" ("Linee guida per i servizi di trasfusione di sangue nel Regno Unito").
2. La specificità degli anticorpi monoclonali di origine è dimostrata utilizzando un pannello di cellule antigene-negative.
3. Il Controllo qualità dei reagenti è stato effettuato utilizzando eritrociti con fenotipi verificati da un centro trasfusionale britannico e lavati con PBS o soluzione salina isotonica prima dell'uso.

### DICHIARAZIONE DI NON RESPONSABILITÀ

1. L'utilizzatore è responsabile delle prestazioni del reagente con qualsiasi metodo diverso da quelli indicati nella **Tecnica raccomandata**.
2. Qualsiasi scostamento dalla **Tecnica raccomandata** deve essere approvato prima dell'uso<sup>5</sup>.

### BIBLIOGRAFIA

1. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 189.
2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3<sup>rd</sup> Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 7.
3. AABB Technical Manual, 16<sup>th</sup> edition, AABB 2008.
4. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6<sup>th</sup> Edition 2002. The Stationary Office.
5. British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force. Recommendations for evaluation, validation and implementation of new techniques for blood grouping, antibody screening and cross matching. Transfusion Medicine, 1995, **5**, 145-150.

### DIMENSIONI DEI REAGENTI DISPONIBILI

	Dimensione fiala	Numero catalogo	Test per fiala
<b>Anti-Le<sup>b</sup> Monoclonal</b>	2 ml	631002	40
	1000 ml	631000*	20.000

\*Questa dimensione è esclusivamente per uso successivo (FFMU), pertanto non è dotata di marchio CE.



**Lorne Laboratories Limited**  
Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate  
Danehill  
Lower Earley  
Berkshire, RG6 4UT  
Regno Unito  
Tel: +44 (0) 118 921 2264  
Fax: +44 (0) 118 986 4518  
E-mail: info@lornelabs.com

<b>EC</b>	<b>REP</b>	Advena Ltd. Tower Business Centre, 2 <sup>nd</sup> Flr., Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta
-----------	------------	---