



# LORNE LABORATORIES LTD. GRAN BRETAGNA



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

**Anti-Le<sup>a</sup> Monoclonal:** Per tecniche in provetta, Bio-Rad-ID e Ortho BioVue.

### 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> non è stato associato alla Malattia emolitica del neonato, ma esempi di Anti-Le<sup>a</sup> hanno causato reazioni trasfusionali emolitiche.

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>a</sup> (LE1) 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>a</sup> presente sugli eritrociti umani e, dopo la centrifugazione, causa l'agglutinazione (formazione di aggregati) diretta degli eritrociti che trasportano l'antigene Le<sup>a</sup>. L'assenza di agglutinazione (mancata formazione di aggregati) in genere indica l'assenza dell'antigene Le<sup>a</sup> (vedere **Limitazioni**).

### REAGENTI

Il reagente Lorne Monoclonal Anti-Le<sup>a</sup> per la determinazione del gruppo sanguigno contiene anticorpi IgM monoclonali umani, diluiti in un tampone fosfato contenente cloruro di sodio, EDTA, albumina bovina e un potenziatore macromolecolare (2,5 g%). Anti-Le<sup>a</sup> è prodotto con Clone P3N20V3. 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

1. I reagenti sono destinati esclusivamente all'uso diagnostico *in vitro*.
2. Se una fiala di reagente presenta crepe o perdite, gettare via il contenuto immediatamente.
3. Non usare i reagenti dopo la data di scadenza (vedere **Etichetta della fiala**).
4. Non usare i reagenti se è presente un precipitato.
5. Quando si maneggiano i reagenti, indossare indumenti protettivi quali guanti monouso e un camice da laboratorio.
6. I reagenti sono stati filtrati attraverso una capsula da 0,2 µm per ridurre la carica batterica, ma non vengono forniti sterili. 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.
7. I reagenti contengono <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.

8. 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

1. 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.
2. 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 (quale HDN, AIHA), è importante analizzare gli eritrociti del paziente mediante il controllo negativo del reagente di Lorne (Monoclonal Rh Control (catalogo 640010)).
3. Prima dell'uso, far riscaldare il reagente fino a temperatura ambiente. Dopo aver utilizzato il reagente, riportarlo nel luogo di conservazione a 2-8°C.
4. Nella **Tecnica in provetta** un volume è di circa 50µl se si usa la fiala contagocce fornita.
5. 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.
6. L'utilizzatore deve stabilire l'idoneità del reagente per l'uso in altre tecniche.

### REAGENTI E MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

#### Tecnica in provetta

- Provette in vetro (10 x 75 mm o 12 x 75 mm).
- Centrifuga con velocità di rotazione di 1000 g per 20 secondi.
- Soluzione di PBS (pH 6.8-7.2) o soluzione salina isotonica (pH 6.5-7.5).
- Cellule di controllo Le(a+) positive e Le(a-) negative.

#### Tecnica di microtipizzazione Bio-Rad-ID

- ID-Card Bio-Rad (cloruro di sodio, test enzimatici e agglutinine a freddo).
- ID-Centrifuge Bio-Rad.
- ID-CellStab o ID-Diluent 2 Bio-Rad.

#### Tecnica di tipizzazione Ortho BioVue

- Cassette Ortho BioVue System (Neutre).
- Centrifuga Ortho BioVue System.
- Diluente globuli rossi 0,8% Ortho.

#### Tutte le tecniche

- Pipette volumetriche.

### TECNICHE RACCOMANDATE

#### A. Tecnica in provetta

1. Preparare una sospensione di eritrociti lavati al 2-3% in PBS o soluzione salina isotonica.
2. Inserire in una provetta etichettata: 1 volume di reagente di Lewis Lorne e 1 volume di sospensione di eritrociti.
3. Miscelare accuratamente e incubare a temperatura ambiente per 15 minuti.
4. Centrifugare tutte le provette per 20 secondi a 1000 rcf o per un tempo e una forza alternativi adeguati.
5. Risospesare delicatamente il sedimento eritrocitario e procedere alla lettura macroscopica dell'agglutinazione

#### B. Tecnica di microtipizzazione Bio-Rad-ID

1. Preparare una sospensione di eritrociti lavati allo 0,8% in ID-Cellstab o ID-Diluent 2.
2. Rimuovere la linguetta di alluminio dal numero necessario di microprovette sulla ID-Card con cloruro di sodio/enzima/agglutinine a freddo.
3. Inserire nella microprovetta appropriata: 50µl di sospensione di eritrociti allo 0,8% e 25µl di reagente Lorne.
4. Incubare la/e ID-Card per 15 minuti a temperatura ambiente.
5. Centrifugare la/e ID-Card in una centrifuga Bio-Rad-ID.
6. Procedere alla lettura macroscopica dell'agglutinazione.

#### C. Tecnica di tipizzazione Ortho BioVue

1. Preparare una sospensione di eritrociti lavati allo 0,8% in Diluente globuli rossi 0,8% Ortho.
2. Rimuovere la linguetta di alluminio dal numero necessario di camere di reazione sulla cassetta neutra.
3. Inserire nella camera di reazione appropriata: 50µl di sospensione di eritrociti e 40µl di reagente Lorne.

4. Incubare la/le cassetta/e per 15 minuti a temperatura ambiente.
5. Centrifugare la/le cassetta/e in una Centrifuga Ortho BioVue System.
6. Procedere alla lettura macroscopica dell'agglutinazione.

## INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI DEI TEST

1. **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 Le<sup>a</sup> sugli eritrociti.
2. **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 Le<sup>a</sup> sugli eritrociti.
3. **Controllo:** Sono da escludere i risultati dei 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

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

## LIMITAZIONI

1. I reagenti Lorne Lewis devono essere utilizzati solo con eritrociti lavati sospesi in 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 del test, dando risultati falsi negativi.
2. Gli eritrociti della maggior parte dei neonati tipizzeranno Le(a-b-) con reagenti anti-Lewis monoclonali o umani, sebbene alcuni campioni produrranno reazioni deboli positive nei test dell'antiglobulina diretta con Anti-Le<sup>a</sup> monoclonale di topo.
3. 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.
4. Il sangue conservato può dare reazioni più deboli rispetto al sangue fresco.
5. 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 dei reagenti con qualsiasi metodo diverso da quelli indicati nelle **Tecniche raccomandate**.
2. Qualsiasi scostamento dalle **Tecniche raccomandate** 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
Anti-Le <sup>a</sup> Monoclonal	2 ml	632002	40
	1000 ml	632000*	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



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