



## REAGENTES MONOCLONAIS DE DETERMINAÇÃO DO GRUPO SANGUÍNEO

### INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

**Anti-A, Anti-B e Anti-A, B Monoclonal:** Para técnicas em tubo, Bio-Rad-ID, Ortho BioVue, microplaca e lâmina.

#### RESUMO

Em 1900, Landsteiner descobriu que o soro de algumas pessoas aglutinava as hemácias de outras pessoas. Atualmente são reconhecidos quatro fenótipos comuns: O, A, B e AB. Desde então, foram identificados subgrupos dos fenótipos A e B.

Grupo direto			Grupo reverso				Fenótipo ABO	Caucasianos % <sup>1</sup>
A	B	A, B	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	B	O		
+	0	+	0	0	+	0	A	43
0	+	+	+	+	0	0	B	9
0	0	0	+	+	+	0	O	44
+	+	+	0	0	0	0	AB	4

#### UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

Os reagentes ABO são reagentes de determinação do grupo sanguíneo destinados a serem utilizados para determinar qualitativamente a presença ou ausência de antígenos A e/ou B nas hemácias de doadores de sangue ou de doentes que necessitem de uma transfusão de sangue, quando testados em conformidade com as técnicas recomendadas nestas Instruções de utilização.

#### PRINCÍPIO

Os reagentes contêm anticorpos contra o antígeno A e/ou B apropriado em hemácias humanas e causarão a aglutinação (agregação) direta de hemácias portadoras do antígeno ABO correspondente. A não ocorrência de aglutinação indica, geralmente, a ausência do antígeno ABO correspondente em hemácias humanas (consulte **Limitações**).

#### REAGENTES

Os reagentes de determinação do grupo sanguíneo Lorne Monoclonal ABO IgM contêm anticorpos monoclonais de camundongo, diluídos num tampão fosfato com cloreto de sódio, EDTA e albumina bovina. Os reagentes não contêm nem consistem em substâncias cancerígenas, mutagénicas ou tóxicas para a reprodução (CMR), substâncias passíveis de causarem a desregulação do sistema endócrino nem substâncias passíveis de causarem sensibilização ou uma reação alérgica no utilizador. Cada reagente é fornecido na diluição ideal para utilização com todas as técnicas recomendadas indicadas abaixo, sem necessidade de diluição ou acréscimo adicional. Para obter informações sobre o número de referência do lote e o prazo de validade, consulte o **rótulo do frasco**.

Produto	Linha/clone celular	Cor	Corante utilizado
Anti-A	9113D10	Azul	Azul patenteado
Anti-B	9621A8	Amarelo	Tartrazina
Anti-A, B	152D12 + 9113D10 + ES15	Incolor	Nenhum

#### CONSERVAÇÃO

Após receção, os frascos de reagente devem ser conservados entre 2–8 °C. A conservação prolongada a temperaturas fora deste intervalo pode resultar em perda acelerada de reatividade do reagente. Este reagente foi submetido a estudos de estabilidade durante o transporte a 37 °C e –25 °C, conforme descrito no documento BS EN ISO 23640:2015.

#### COLHEITA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

As amostras de sangue podem ser colhidas em anticoagulantes EDTA, citrato e CPDA, ou como amostras coaguladas. As amostras devem ser testadas assim que possível após a colheita. Em caso de adiamento do teste, armazene as amostras a 2–8 °C. As amostras que apresentem hemólise visível ou contaminação microbiana não devem ser utilizadas para teste. As amostras de sangue que revelem evidências de lise podem apresentar resultados pouco fiáveis. É preferível (mas não essencial) lavar todas as amostras de sangue com solução salina tamponada com fosfato (PBS) ou solução salina isotónica antes de testá-las.

#### PRECAUÇÕES

- Os reagentes destinam-se apenas a utilização em diagnóstico *in vitro*.
- Se um frasco de reagente estiver partido ou apresentar fugas, elimine o conteúdo imediatamente.
- Não utilize os reagentes após o prazo de validade (consulte o **rótulo do frasco**).
- Não utilize os reagentes se estiver presente precipitado.
- Ao manusear reagentes deve utilizar-se vestuário de proteção, como luvas descartáveis e uma bata de laboratório.

- Os reagentes foram filtrados através de uma cápsula de 0,2 µm para reduzir a carga biológica, mas não são fornecidos estéreis. Quando um frasco é aberto, o conteúdo do mesmo deverá manter-se viável até ao fim do prazo de validade, desde que não exista turvação acentuada, a qual pode indicar deterioração ou contaminação do reagente.
- Os reagentes contêm <0,1% de azida de sódio. A azida de sódio pode ser tóxica se ingerida e pode reagir com tubagens de chumbo e cobre, formando azidas metálicas explosivas. Aquando da eliminação, enxague com grandes volumes de água.
- Nenhum teste conhecido pode garantir que os produtos de origem humana ou animal estão isentos de agentes infecciosos. Deve ter-se cuidado na utilização e eliminação de cada frasco e respetivo conteúdo.

#### ELIMINAÇÃO DO REAGENTE E CONTROLO DE DERRAMES

Para obter informações sobre a eliminação do reagente e a descontaminação de um derrame, consulte a **Ficha de Dados de Segurança**, disponível mediante pedido.

#### 1. CONTROLOS E RECOMENDAÇÕES

- Recomenda-se que seja testado um controlo positivo e um controlo negativo em paralelo com cada lote de testes. Os testes devem ser considerados inválidos se os controlos não apresentarem os resultados esperados.
- Uma vez que estes reagentes não contêm potenciadores macromoleculares, é muito improvável que ocorram reações positivas falsas com células revestidas com IgG.
- Amostras sanguíneas de subgrupos A ou B fracos (p. ex., A<sub>x</sub>) poderão dar origem a reações negativas falsas ou fracas, quando testadas utilizando lâminas, placas de microtítulos ou cartões de gel. É recomendável repetir o teste de subgrupos fracos utilizando a técnica em tubo.
- Em indivíduos com mais de seis meses de idade, os resultados de determinação de grupo sanguíneo ABO devem ser confirmados por teste do seu soro ou plasma em comparação com células reconhecidas dos grupos A<sub>1</sub> e B antes de se poder confirmar o seu grupo sanguíneo ABO.
- Antes da utilização, deixe o reagente aquecer até à temperatura ambiente. Assim que o reagente tiver sido utilizado, volte a armazená-lo a 2–8 °C.
- Nas **Técnicas recomendadas**, um volume corresponde a cerca de 50 µl quando é utilizado o conta-gotas do frasco fornecido.
- A utilização dos reagentes e a interpretação dos resultados devem ser realizadas por pessoal qualificado e com a devida formação, de acordo com os requisitos em vigor no país onde os reagentes são utilizados.
- O utilizador tem de determinar a adequabilidade dos reagentes para utilização com outras técnicas.

#### REAGENTES E MATERIAIS NECESSÁRIOS

- Pipetas volumétricas.
- Bio-Rad ID-Cards (NaCl, teste enzimático e aglutininas frias).
- Bio-Rad ID-Centrífuge.
- Bio-Rad ID-CellStab ou ID-Diluent 2.
- Cassetes do sistema Ortho BioVue (neutras).
- Centrifugadora do sistema Ortho BioVue.
- Diluyente de hemácias. Ortho a 0,8%.
- Lâminas de microscópio de vidro ou quadrados de papel branco.
- Varetas aplicadoras.
- Tubos de teste de vidro (10 x 75 mm ou 12 x 75 mm).
- Centrifugadora para tubos de teste.
- Microplacas de poço em "U" validadas.
- Centrifugadora para microplacas.
- Agitador de placas.
- Solução PBS (pH 6,8–7,2) ou solução salina isotónica (pH 6,5–7,5).
- Hemácias de controlo positivo e controlo negativo:  
Anti-A: grupo A (controlo positivo) e grupo O (controlo negativo).  
Anti-B: grupo B (controlo positivo) e grupo O (controlo negativo).  
Anti-A, B: grupo A e grupo B (controles positivos) e grupo O (controlo negativo).

#### TÉCNICAS RECOMENDADAS

##### A. Técnica em tubo

- Prepare uma suspensão a 2–3% de hemácias em solução salina tamponada com fosfato (PBS) ou solução salina isotónica.
- Coloque num tubo de teste rotulado: 1 volume de reagente Lorne Anti-ABO e 1 volume de suspensão de hemácias.
- Misture bem e incube a temperatura ambiente durante 1 minuto.
- Centrifugue todos os tubos durante 10 segundos a 1000 rcf (força centrífuga relativa), ou utilizando um período de tempo e uma força alternativos adequados.
- Com cuidado, proceda à ressuspensão do botão de hemácias e leia macroscopicamente para deteção de aglutinação.

- Qualquer tubo que revele um resultado negativo ou questionável deverá ser incubado durante 15 minutos a temperatura ambiente.
- Após a incubação, repita os passos 4 e 5.

#### B. Técnica Bio-Rad-ID (cartões de NaCl, teste enzimático e aglutininas frias)

- Prepare uma suspensão a 0,8% de hemácias em ID-CellStab ou ID-Diluent 2.
- Remova a película de alumínio dos microtubos necessários.
- Coloque no microtubo apropriado: 50 µl de suspensão de hemácias e 25 µl de reagente Lorne Anti-ABO.
- Centrifugue o(s) ID-Card(s) na centrifugadora de cartões de gel Bio-Rad.
- Leia macroscopicamente para deteção de aglutinação.

#### C. Técnica Ortho BioVue (cassetes neutras)

- Prepare uma suspensão a 0,8% com diluente de hemácias Ortho a 0,8%.
- Remova a película de alumínio das câmaras de reação necessárias.
- Coloque na câmara de reação apropriada: 50 µl de suspensão de hemácias e 40 µl de reagente Lorne Anti-ABO.
- Centrifugue a(s) cassete(s) numa centrifugadora do sistema Ortho BioVue
- Leia macroscopicamente para deteção de aglutinação.

#### D. Técnica de microplaca, utilizando poços em "U"

- Prepare uma suspensão a 2–3% de hemácias em solução salina tamponada com fosfato (PBS) ou solução salina isotónica.
- Coloque no poço apropriado: 1 volume de reagente Lorne Anti-ABO e 1 volume de suspensão de hemácias.
- Misture bem, utilizando preferencialmente um agitador de microplacas, tendo o cuidado de evitar a contaminação cruzada entre poços.
- Incuba a temperatura ambiente durante 15 minutos (tempo dependente do utilizador).
- Centrifugue a microplaca durante 1 minuto a 140 rcf ou utilizando um período de tempo e uma força alternativos adequados.
- Proceda à ressuspensão dos botões de hemácias, utilizando agitação cuidadosamente controlada, num agitador de microplacas
- Leia macroscopicamente ou com um leitor automático validado.
- Eventuais reações fracas deverão ser repetidas empregando a técnica em tubo.

#### E. Técnica em lâmina

- Prepare uma suspensão de hemácias a 35–45% em soro, plasma, solução salina tamponada com fosfato (PBS) ou solução salina isotónica, ou utilize sangue total anticoagulado (no seu próprio plasma).
- Coloque numa lâmina de vidro rotulada ou quadrado de papel rotulado: 1 volume de reagente Lorne Anti-ABO e 1 volume de suspensão de hemácias.
- Utilizando uma vareta aplicadora limpa, misture o reagente e as células sobre uma área de 20 x 40 mm.
- Incline lentamente a lâmina para trás e para a frente durante 30 segundos, com mistura adicional ocasional durante um período de 1 minuto, mantendo a lâmina a temperatura ambiente.
- Leia macroscopicamente ao fim de 1 minuto sobre uma luz difusa e não confunda cadeias de fibrina com aglutinação.
- Eventuais reações fracas deverão ser repetidas empregando a técnica em tubo.

#### INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS DE TESTE

- Positivo:** a aglutinação das hemácias constitui um resultado de teste positivo e dentro das limitações aceites do procedimento de teste, indicando a presença do antígeno ABO apropriado nas hemácias.
- Negativo:** a não ocorrência de aglutinação das hemácias constitui um resultado negativo e dentro das limitações aceites do procedimento de teste, indicando a ausência de antígeno ABO apropriado nas hemácias.
- Discrepâncias:** se os resultados obtidos com o grupo reverso não se correlacionarem com os do grupo direto, é necessária uma investigação mais aprofundada.

#### ESTABILIDADE DAS REAÇÕES

- Leia todos os testes em tubos e microplacas imediatamente após a centrifugação.
- Os testes em lâmina deverão ser interpretados, no máximo, ao fim de um minuto, de modo a garantir a especificidade e evitar a possibilidade de um resultado negativo ser incorretamente interpretado como positivo devido a secagem do reagente.
- Deve ter-se precaução na interpretação dos resultados de testes realizados a temperaturas que não as recomendadas.

#### LIMITAÇÕES

- Os antígenos ABO não estão completamente desenvolvidos aquando do nascimento e, por conseguinte, poderão ocorrer reações fracas com amostras do cordão umbilical ou neonatais.
- Ao utilizar o reagente anti-A, B monoclonal, as amostras sanguíneas de subgrupos A ou B fracos (p. ex., Ax) poderão dar origem a reações negativas falsas ou fracas, quando testadas utilizando lâminas, placas de microtitulos ou cartões de gel. É recomendável repetir o teste de subgrupos fracos utilizando a técnica em tubo.
- Os reagentes monoclonais Lorne Anti-A e Anti-B não estão validados para detetar antígenos Ax e A3 ou Bx e B3, pelo que não alegamos reatividade do reagente Anti-A ou Anti-B monoclonal contra estes subgrupos A e B fracos.

- O sangue armazenado pode dar origem a reações mais fracas do que o sangue fresco.
- Também podem ocorrer resultados positivos falsos ou negativos falsos devido a:
  - Contaminação dos materiais de teste
  - Inadequação da conservação, concentração de células, tempo de incubação ou temperatura
  - Centrifugação inadequada ou excessiva
  - Desvio das técnicas recomendadas
  - Amostras do cordão umbilical contaminadas com geleia de Wharton

#### CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO ESPECÍFICAS

- Antes da libertação, cada lote de reagente monoclonal Lorne ABO foi testado utilizando os métodos de teste recomendados indicados nestas Instruções de utilização. Os testes cumpriram os requisitos de teste indicados na versão/edição atual das "Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom"<sup>3</sup> (Linhas de Orientação para os Serviços de Transfusão de Sangue no Reino Unido) e das "Common Technical Specifications" (Especificações Técnicas Comuns).
- A especificidade dos anticorpos monoclonais originais é demonstrada utilizando um painel de células negativas para antígeno.
- A potência dos reagentes foi testada comparativamente com os seguintes padrões de referência de potência mínima do Instituto Nacional de Padrões e Controlos Biológicos (NIBSC, National Institute of Biological Standards and Controls):
  - Padrão de referência anti-A 03/188 e/ou
  - Padrão de referência anti-B 03/164
- O reagente Lorne Anti-B não reage com hemácias com "B adquirido".
- Os reagentes monoclonais Lorne ABO não detetam antígenos ocultos como T, Tn ou Cad.
- O controlo de qualidade dos reagentes foi realizado utilizando hemácias com fenótipos que foram verificados por um centro de transfusões de sangue no Reino Unido e tinham sido lavadas com solução salina tamponada com fosfato (PBS) ou solução salina isotónica antes da utilização.

#### ISENÇÃO DE RESPONSABILIDADE

- O utilizador é responsável pelo desempenho dos reagentes quando utilizados em qualquer outro método que não os mencionados em **Técnicas recomendadas**.
- Eventuais desvios relativamente às **Técnicas recomendadas** devem ser validados antes da utilização<sup>5</sup>.

#### BIBLIOGRAFIA

- Marion E. Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 181.
- Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3<sup>rd</sup> Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6.
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6<sup>th</sup> Edition 2002. The Stationary Office.
- AABB Technical Manual, 16<sup>th</sup> edition, AABB 2008.
- 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.

#### APRESENTAÇÕES DISPONÍVEIS DO REAGENTE

	Tamanho do frasco	Número de catálogo	Testes por frasco
Anti-A monoclonal	10 ml	600010	200
	1000 ml	600000*	20 000
	5000 ml	600000X5*	100 000
Anti-B monoclonal	10 ml	610010	200
	1000 ml	610000*	20 000
	5000 ml	610000X5*	100 000
Anti-A, B monoclonal	10 ml	620010	200
	1000 ml	620000*	20 000
	5000 ml	620000X5*	100 000

\*Esta apresentação é apenas para Utilização em Fabrico Posterior (FFMU, For Further Manufacturing Use), pelo que não possui a marca CE.



**Lorne Laboratories Limited**  
Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate  
Danehill  
Lower Earley  
Berkshire, RG6 4UT  
Reino Unido  
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