



LORNE LABORATORIES LTD. GRÃ-BRETANHA



REAGENTES MONOCLONAIS DE DETERMINAÇÃO DO GRUPO SANGUÍNEO INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Anti-P₁ Monoclonal: para técnicas em tubo, Bio-Rad-ID e Ortho BioVue.

RESUMO

Landsteiner descobriu o antígeno P₁ em 1927. Geralmente, o anti-P₁ não reage acima da temperatura ambiente, podendo muitas vezes não ser detetado em testes de rotina. O anti-P₁ não causa doença hemolítica do recém-nascido e apenas raramente foi associado a reações transfusionais hemolíticas.

Anti-P ₁	Fenótipo	Caucasianos ²	Afroamericanos ²
+	P ₁	79%	94%
0	P ₂	21%	6%

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O reagente é um reagente de determinação do grupo sanguíneo destinado a ser utilizado para determinar qualitativamente a presença ou ausência de antígenos P₁ nas hemácias de doadores de sangue ou de doentes que necessitem de uma transfusão de sangue, quando testadas em conformidade com as técnicas recomendadas nestas Instruções de utilização.

PRINCÍPIO

O reagente contém anticorpos contra o antígeno P₁ em hemácias humanas e provoca a aglutinação (agregação) direta de hemácias portadoras do antígeno P₁. A não ocorrência de aglutinação (ausência de agregação) indica, geralmente, a ausência do antígeno P₁ (consulte **Limitações**).

REAGENTE

O reagente de determinação do grupo sanguíneo Lorne Monoclonal IgM Anti-P₁ contém anticorpos IgM monoclonais de ratinho preparados a partir da linha celular, clone 650, diluídos numa solução com cloreto de sódio e albumina bovina. O reagente não contém nem consiste 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. O 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**.

CONSERVAÇÃO

Após receção, os frascos de reagente devem ser armazenados a 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

- O reagente destina-se apenas a utilização em diagnóstico *in vitro*.
- Se um frasco de reagente estiver partido ou apresentar fugas, elimine o conteúdo imediatamente.
- Não utilize o reagente após o prazo de validade (consulte o **rótulo do frasco**).
- Não utilize o reagente se estiver presente precipitado.
- Ao manusear reagentes deve utilizar-se vestuário de proteção, como luvas descartáveis e uma bata de laboratório.
- O reagente foi filtrado através de uma cápsula de 0,2 µm para reduzir a carga biológica, mas não é fornecido estéril. 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.
- O reagente contém <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.

CONTROLOS E RECOMENDAÇÕES

- Recomenda-se que seja testado um controlo positivo (idealmente células P₁ fracas) 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.
- Nas **Técnicas recomendadas**, um volume corresponde a cerca de 50 µl quando é utilizado o conta-gotas do frasco fornecido.
- A utilização do reagente e a interpretação dos resultados devem de ser realizadas por profissionais qualificados e com a devida formação, de acordo com os requisitos em vigor no país onde o reagente é utilizado.
- O utilizador tem de determinar a adequabilidade do reagente para utilização com outras técnicas.

REAGENTES E MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

Técnica em tubo

- Tubos de teste de vidro (10 x 75 mm ou 12 x 75 mm).
- Centrifugadora capaz de girar a 1000 g durante 20 segundos.
- Solução PBS (pH 6,8–7,2) ou solução salina isotónica (pH 6,5–7,5).
- Hemácias de controlo positivo (idealmente P₁ fracas) e controlo negativo.

Técnica de microtipagem Bio-Rad-ID

- Bio-Rad ID-Cards (NaCl, testes enzimáticos e aglutininas frias).
- Bio-Rad ID-Centrífuge.
- Bio-Rad ID-CellStab ou ID-Diluent 2.

Técnica de tipagem Ortho BioVue

- Cassetes do Ortho BioVue System (neutras).
- Centrifugadora Ortho BioVue System.
- Diluyente de hemácias Ortho a 0,8%.

Todas as técnicas

- Pipetas volumétricas.
- Frigorífico regulado para 2–8 °C.

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 e 1 volume de suspensão de hemácias.
- Misture bem e incube a 2–8 °C durante 15 minutos.
- Centrifugue todos os tubos durante 20 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.

B. Técnica de microtipagem Bio-Rad-ID

- Prepare uma suspensão a 0,8% de hemácias em ID-CellStab ou ID-Diluent 2.
- Remova a película de alumínio dos microtubos necessários nos ID-Card(s) de NaCl, testes enzimáticos e aglutininas frias.
- Coloque no microtubo apropriado: 50 µl de suspensão de hemácias e 25 µl de reagente Lorne.
- Incube o ID-Card durante 15 minutos a 2–8 °C.
- Centrifugue o ID-Card numa Bio-Rad ID Centrífuge.
- Leia macroscopicamente para deteção de aglutinação.

C. Técnica de tipagem Ortho BioVue

- Prepare uma suspensão a 0,8% de hemácias em diluyente 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.
- Incube a(s) cassete(s) durante 15 minutos a 2–8 °C.
- Centrifugue a(s) cassete(s) numa centrifugadora Ortho BioVue System.
- Leia macroscopicamente para deteção de aglutinação.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS DE TESTE

1. **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 P₁ nas hemácias.
2. **Negativo:** a não ocorrência de aglutinação das hemácias constitui um resultado negativo e dentro das limitações aceites do procedimento de teste, indicando a ausência do antígeno P₁ nas hemácias.

ESTABILIDADE DAS REAÇÕES

1. Os testes devem ser lidos imediatamente após a centrifugação. Os atrasos podem resultar na dissociação de complexos antígeno-anticorpo, conduzindo a reações negativas falsas ou positivas fracas.
2. Deve ter-se precaução na interpretação dos resultados de testes realizados a temperaturas que não as recomendadas.

LIMITAÇÕES

1. O antígeno P₁ é fracamente expresso nas células de recém-nascidos.
2. Existe uma ampla variação no que se refere à quantidade de antígenos P₁ presente em diferentes células positivas para P₁. É provável que a intensidade da aglutinação observada com essas células varie em conformidade.
3. O sangue armazenado pode dar origem a reações mais fracas do que o sangue fresco.
4. 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

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO ESPECÍFICAS

1. Antes da libertação, cada lote de reagente 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" (Linhas de Orientação para os Serviços de Transfusão de Sangue no Reino Unido).
2. A especificidade do anticorpo monoclonal original é demonstrada utilizando um painel de células negativas para antígeno.
3. O controlo de qualidade do reagente foi realizado utilizando hemácias com fenótipos que foram verificados por um centro de transfusões de sangue no Reino Unido e que tinham sido lavadas com solução salina tamponada com fosfato (PBS) ou solução salina isotónica antes da utilização.

ISENÇÃO DE RESPONSABILIDADE

1. O utilizador é responsável pelo desempenho do reagente quando utilizado em qualquer outro método que não os mencionados em **Técnicas recomendadas**.
2. Eventuais desvios relativamente às **Técnicas recomendadas** devem ser validados antes da utilização⁵.

BIBLIOGRAFIA

1. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition, Montgomery Scientific, Miami, 1985, Chapter 9.
2. Marion E. Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 191.
3. AABB Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
4. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6th 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.

APRESENTAÇÕES DISPONÍVEIS DO REAGENTE

Tamanho do frasco	Número de catálogo	Testes por frasco
2 ml	315002	40
1000 ml	315000*	20 000

*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

EC REP Advena Ltd. Tower Business Centre, 2nd Flr.,
Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta