



MEIO DE OTIMIZAÇÃO SEROLÓGICA INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

PEG-ADD: para potenciar técnicas de antiglobulina indiretas.

RESUMO

É um facto comprovado que a redução da força iónica de um sistema de teste aumenta a taxa de ligação antígeno-anticorpo em testes de antiglobulina indiretas. A sensibilidade de técnicas de antiglobulina indiretas também pode ser aumentada através da utilização de polietilenoglicol (PEG) como meio potenciador.

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

A solução PEG-ADD é uma solução de baixa força iónica que contém um polímero de elevado peso molecular e que se destina a ser utilizada na determinação do grupo sanguíneo para procedimentos de rastreio de compatibilidade cruzada e anticorpos, quando utilizada em conformidade com as técnicas recomendadas nestas Instruções de utilização.

PRINCÍPIO

Quando adicionados a uma solução de imunorreagentes, os polímeros de elevado peso molecular deslocam outras moléculas, aumentando assim o grau de contacto entre antígenos e anticorpos. Quando o PEG é dissolvido numa solução de baixa força iónica, as propriedades de otimização de ambos são combinadas e pode ser adicionado a cada teste um volume mais pequeno do que o que é utilizado quando o PEG é dissolvido em solução salina de força iónica normal.

REAGENTE

A solução Lorne PEG-ADD é uma solução de baixa força iónica, que contém glicina, um tampão fosfato e polietilenoglicol. 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. O armazenamento prolongado 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 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

1. O reagente destina-se apenas a utilização em diagnóstico *in vitro*.
2. Se um frasco estiver partido ou apresentar fugas, elimine o conteúdo imediatamente.
3. Não utilize o reagente após o prazo de validade (consulte o **rótulo do frasco**).
4. Não utilize o reagente se estiver presente precipitado.
5. Ao manusear o reagente deve utilizar-se vestuário de proteção, como luvas descartáveis e uma bata de laboratório.
6. 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.
7. 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.
8. Nenhum teste conhecido pode garantir que os produtos de origem 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

1. Os testes de Lorne Precise Weak Anti-D e de hemácias apropriadas (idealmente R1r e rr) devem ser realizados em paralelo com cada lote de testes. Os testes devem ser considerados inválidos se os controlos não apresentarem os resultados esperados.
2. A técnica de antiglobulina apenas pode ser considerada válida se todos os testes negativos reagirem positivamente com hemácias sensibilizadas com IgG.
3. A solução PEG-ADD, as suspensões de hemácias e os soros de teste devem estar à temperatura ambiente antes da utilização, de modo a evitar reações positivas indesejáveis devidas a anticorpos "frios".
4. A utilização de globulina anti-humana poliespecífica com a solução Lorne PEG-ADD pode resultar em reações não específicas.
5. Nas **Técnicas recomendadas**, uma gota corresponde a cerca de 50 µl quando é utilizado o conta-gotas do frasco fornecido.
6. A utilização do reagente e a interpretação dos resultados devem ser realizadas por pessoal qualificado e com a devida formação, em conformidade com os requisitos em vigor no país onde os reagentes são utilizados.
7. O utilizador final tem de determinar a adequabilidade do reagente para utilização com outras técnicas.

REAGENTES E MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

- IgG anti-humana, ou seja, Lorne Anti-Human IgG (número de catálogo: 402010 ou 401010).
- Agente de lavagem de células de Coombs.
- Tubos de teste de vidro (10 x 75 mm ou 12 x 75 mm).
- Hemácias sensibilizadas com IgG, ou seja, Lorne Coombs Control Cells (número de catálogo: 970010).
- Lorne Precise Weak Anti-D (número de catálogo: 209005).
- Solução PBS (pH 6,8–7,2) ou solução salina isotónica (pH 6,5–7,5).
- Hemácias de controlo positivo (idealmente R1r) e controlo negativo (rr).
- Pipetas volumétricas.
- Banho-maria ou incubadora de calor seco calibrada para 37 °C ± 2 °C.

TÉCNICA RECOMENDADA

1. Prepare uma suspensão a 2–3% de hemácias em solução salina tamponada com fosfato (PBS) ou solução salina isotónica.
2. Coloque num tubo de teste rotulado: 2 volumes de soro de teste, 1 volume de suspensão de hemácias de teste e 2 volumes de Lorne PEG-ADD.
3. Misture bem e incube a 37 °C durante 15 minutos.
4. Lave as hemácias 4 vezes com solução salina tamponada com fosfato (PBS) ou solução salina isotónica, tendo o cuidado de decantar a solução entre lavagens e de ressuspender cada botão de células após cada lavagem. Decante completamente a solução salina após a última lavagem.
5. Adicione 2 volumes de globulina anti-humana a cada botão de células secas.
6. Misture bem e, em seguida, centrifugue todos os tubos durante 20 segundos a 1000 rcf (força centrífuga relativa) ou utilizando um período de tempo e uma força alternativos adequados.
7. Com cuidado, proceda à ressuspensão das células e verifique a presença de aglutinação.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS DE TESTE

1. **Positivo:** a aglutinação de hemácias constitui um resultado de teste positivo.
2. **Negativo:** a não ocorrência de aglutinação de hemácias constitui um resultado negativo.

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. Hemácias com um teste de antiglobulina direta (TAD) positivo devido a um revestimento de IgG não podem ser submetidas a tipagem pela técnica de antiglobulina indireta.
2. A solução Lorne PEG-ADD não deve ser utilizada como meio para suspensão de hemácias.
3. Nem todas as reações antígeno-anticorpo são otimizadas através da utilização da solução Lorne PEG-ADD na técnica de antiglobulina indireta.
4. As hemácias tendem a agregar-se na presença de polímeros lineares, pelo que a solução Lorne PEG-ADD apenas pode ser utilizada no teste de antiglobulina indireta.
5. É possível que anticorpos IgM não sejam detetados pela técnica de antiglobulina indireta.

6. Também podem ocorrer resultados positivos falsos ou negativos falsos devido a:
- Contaminação dos materiais de teste
 - Concentração de células inadequada
 - Tempo ou temperatura de incubação inadequados
 - Centrifugação inadequada ou excessiva
 - A conservação incorreta dos materiais de teste ou omissão de reagentes
 - Desvio das técnicas recomendadas

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO ESPECÍFICAS

1. Antes da libertação, cada lote da solução Lorne PEG-ADD demonstrou otimizar muitas reações antigénio-anticorpo quando utilizada empregando a **Técnica recomendada**.
2. A solução cumpre as recomendações contidas na edição mais recente das "Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom" (Linhas de Orientação para os Serviços de Transfusão de Sangue no Reino Unido).

ISENÇÃO DE RESPONSABILIDADE

1. O utilizador final é responsável pelo desempenho do reagente quando utilizado em qualquer outro método que não os mencionados em **Técnica recomendada**.
2. Eventuais desvios relativamente à **Técnica recomendada** devem ser validados antes da utilização⁹.






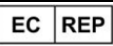

BIBLIOGRAFIA

1. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6
2. B.Wenz, J.Apuzzo and D.P.Shah, Evaluation of the polyethylene glycol-potentiated indirect antiglobulin test, Transfusion 1990-Vol.30, No.4
3. R.S.Shirey, J.S.Boyd and P.M.Ness, Polyethylene glycol versus low-ionic-strength solution in pretransfusion testing: a blinded comparison study, Transfusion 1994-Vol.34, No.5
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
10 ml	485010	100

TABELA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Definição	Símbolo	Definição
	Fabricante		Número de catálogo
	Limitação de temperatura		Utilizar até AAAA-MM-DD
	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro		Consultar as instruções de utilização
	Representante autorizado		Número de lote
	Símbolo CE verificado por um organismo notificado		



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, 2nd Flr.,
 Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta