

LORNE LABORATORIES LTD.

GRÃ-BRETANHA



REAGENTES MONOCLONAIS DE DETERMINAÇÃO DO GRUPO SANGÜÍNEO

INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Anti-Le^a Monoclonal: Para técnicas em tubo, Bio-Rad-ID e Ortho BioVue.

RESUMO

Os antígenos do sistema Lewis não são parte integrante da membrana das hemácias e são produzidos por células de tecidos, encontrando-se principalmente no plasma e em secreções aquosas. As hemácias adquirem os antígenos Lewis por adsorção a partir do plasma envolvente. A quantidade de antígenos Lewis expressa numa célula pode variar em função do fenótipo ABO da célula. O anti-Le^a não tem sido associado a doença hemolítica do recém-nascido, mas existem exemplos de o anti-Le^a ter causado reações transfusionais hemolíticas.

Anti-Le ^a	Anti-Le ^b	Fenótipo	Caucasianos ¹	Afroamericanos ¹
+	0	Le(a+b-)	22%	23%
0	+	Le(a-b+)	72%	55%
0	0	Le(a-b-)	6%	22%
+	+	Le(a+b+)	Raro	Raro

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

Este reagente é um reagente de determinação do grupo sanguíneo destinado a ser utilizado para determinar qualitativamente a presença ou ausência de antígenos Le^a (LE1) 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 Le^a em hemácias humanas e provoca, após centrifugação, a aglutinação (agregação) direta de hemácias portadoras do antígeno Le^a. A não ocorrência de aglutinação (ausência de agregação) indica, geralmente, a ausência do antígeno Le^a (consulte Limitações).

REAGENTES

O reagente de determinação do grupo sanguíneo Lorne Monoclonal Anti-Le^a contém anticorpos IgM monoclonais humanos, diluídos num tampão fosfato com cloreto de sódio, EDTA, albumina bovina e um potenciador macromolecular (2,5 g%). O reagente Anti-Le^a Monoclonal é fabricado com o clone P3N20V3. 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, conserve 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 essencial (consulte a secção "LIMITAÇÕES") 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.

CONTROLOS E RECOMENDAÇÕES

- Um controlo positivo e negativo deverão ser testados em paralelo com cada lote de testes. Os testes devem ser considerados inválidos se os controlos não apresentarem os resultados esperados.
- Ao realizar a tipagem das hemácias de um doente diagnosticado com uma doença (como HDN, AIHA) que provoque o revestimento das hemácias com anticorpos ou outras proteínas, é importante testar as hemácias do doente utilizando o controlo negativo do reagente Lorne (Monoclonal Rh Control, número de catálogo: 640010).
- 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.
- Na **técnica em tubo**, 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).
- Células de controlo positivo Le(a+) e controlo negativo Le(a–).

Técnica de microtipagem Bio-Rad-ID

- Bio-Rad ID-Cards (NaCl, testes enzimáticos e aglutininas frias).
- Bio-Rad ID-Centrifuge.
- 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.

TÉCNICA RECOMENDADA

A. Técnica em tubo

- Prepare uma suspensão a 2–3% de hemácias lavadas em solução salina tamponada com fosfato (PBS) ou solução salina isotónica.
- Coloque num tubo de teste rotulado: 1 volume de reagente Lorne Lewis e 1 volume de suspensão de hemácias.
- Misture bem e incube a temperatura ambiente 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 lavadas em ID-CellStab ou ID-Diluent 2.
- Remova a película de alumínio dos microtubos necessários nos ID-Card(s) de NaCl, teste enzimático e aglutininas frias.
- Coloque no microtubo apropriado: 50 µl de suspensão de hemácias a 0,8% e 25 µl de reagente Lorne.
- Proceda à incubação do(s) ID-Card(s) durante 15 minutos à temperatura ambiente.
- Centrifugue o(s) ID-Card(s) numa Bio-Rad ID Centrifuge.
- Leia macroscopicamente para deteção de aglutinação.

C. Técnica de tipagem Ortho BioVue

1. Prepare uma suspensão a 0,8% de hemácias lavadas em Diluente de hemácias Ortho a 0,8%.
2. Remova a película de alumínio das câmaras de reação necessárias numa cassete neutra.
3. Coloque na câmara de reação apropriada: 50 µl de suspensão de hemácias e 40 µl de reagente Lorne.
4. Incube a(s) cassete(s) durante 15 minutos a temperatura ambiente.
5. Centrifugue a(s) cassete(s) numa centrífuga Ortho BioVue System.
6. Leia macroscopicamente para deteção de aglutinação.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS DE TESTE

1. **Positivo:** a aglutinação das hemácias constitui um resultado do teste positivo e dentro das limitações aceites do procedimento de teste, indicando a presença do antígeno Lea nas hemácias.
2. **Negativo:** a não ocorrência de aglutinação de hemácias constitui um resultado negativo e dentro das limitações aceites do procedimento de teste, indicando a ausência do antígeno Lea nas hemácias.
3. **Controlo:** os resultados de testes de células que são aglutinadas utilizando o controlo negativo do reagente devem ser excluídos, uma vez que a aglutinação é muito provavelmente causada pelo efeito dos potenciadores macromoleculares presentes no reagente sobre as células sensibilizadas.

ESTABILIDADE DAS REAÇÕES

1. Os testes em tubo 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. Os reagentes Lorne Lewis apenas podem ser utilizados com hemácias lavadas suspensas em solução salina fisiológica, pois os antígenos Lewis estão presentes no plasma. Células suspensas em plasma/soro **não podem** ser utilizadas, uma vez que o antígeno solúvel presente pode neutralizar o reagente de teste, dando origem a resultados negativos falsos.
2. As hemácias da maioria dos recém-nascidos revelarão o tipo Le(a-b-) com reagentes anti-Lewis monoclonais ou humanos, embora algumas amostras possam produzir reações positivas fracas em testes de antiglobulina diretos com anti-Le^a monoclonal de ratinho.
3. Não é possível determinar com exatidão fenótipos Lewis em crianças com menos de seis anos de idade. Os antígenos Lewis nas hemácias são mais fracos durante a gravidez.
4. O sangue armazenado pode dar origem a reações mais fracas do que o sangue fresco.
5. 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 inadequados
 - 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 dos anticorpos monoclonais originais é demonstrada utilizando um painel de células negativas para antígeno.
3. 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

1. O utilizador final é responsável pelo desempenho dos reagentes quando utilizados em qualquer outro método que não os mencionados em **Técnica recomendada**.
2. Eventuais desvios relativamente às **Técnicas recomendadas** devem ser validados antes da utilização⁶.

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, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 7.
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

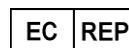
	Tamanho do frasco	Número de catálogo	Testes por frasco
Anti-Le ^a Monoclonal	2 ml	632002	40

TABELA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Definição	Símbolo	Definição
	Fabricante		Número de catálogo
	Limite de temperatura		Utilizar até AAAA-MM-DD
	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro		Consultar as instruções de utilização.
	Represente autorizado		Número de lote
	Símbolo CE com verificação 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