

REAGENTES MONOCLONAIS DE DETERMINAÇÃO DO GRUPO SANGÜÍNEO INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Anti-Fy^a Monoclonal: Para técnicas de antiglobulina indiretas.

RESUMO

Os antígenos Fy^a e Fy^b foram descritos em 1950 e 1951, respetivamente. Os anticorpos anti-Fy^a e anti-Fy^b têm sido ambos implicados em reações transfusionais hemolíticas imediatas e tardias e na doença hemolítica do recém-nascido.

Anti-Fy ^a	Anti-Fy ^b	Fenótipo	Caucasianos, %	Afroamericanos, %
+	0	Fy(a+b-)	17	9
0	+	Fy(a-b+)	34	22
+	+	Fy(a+b+)	49	1
0	0	Fy(a-b-)	Muito raro	68

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O reagente é um reagente de determinação do grupo sanguíneo destinado a ser utilizado para determinar qualitativamente a presença ou ausência do antígeno Fy(a) (FY001) nas hemácias de dadores 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 causará a aglutinação (agregação) indireta de hemácias portadoras do antígeno Fy(a) na fase antiglobulina do teste. A não ocorrência de aglutinação indica, geralmente, a ausência do antígeno Fy(a) (consulte Limitações).

REAGENTES

Este reagente de determinação do grupo sanguíneo IgG monoclonal contém anticorpos monoclonais humanos diluídos num tampão fosfato 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**.

Produto	Linha/clonagem celular
Anti-Fy ^a	DG-FYA-02

CONSERVAÇÃO

Não congele. 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 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.

- Os materiais utilizados para produzir os reagentes foram testados na origem e demonstraram ser negativos para anticorpos contra o VIH 1, VIH 2 e VHC, bem como para HBsAg, utilizando testes microbiológicos aprovados.
- 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 dos reagentes e a descontaminação de um derrame, consulte a **Ficha de Dados de Segurança de Materiais**, disponível mediante pedido.

CONTROLOS E RECOMENDAÇÕES

- Um controlo positivo (idealmente células heterozigóticas) e um controlo 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.
- As técnicas de antiglobulina apenas podem ser consideradas válidas se todos os testes negativos reagirem positivamente com hemácias sensibilizadas com IgG.
- 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 dos reagentes e a interpretação dos resultados devem ser realizadas por profissionais qualificados e com a devida formação, de acordo com os requisitos em vigor no país onde os reagentes são utilizados.
- O utilizador final tem de determinar a adequabilidade dos reagentes para utilização com outras técnicas.

REAGENTES E MATERIAIS NECESSÁRIOS

- Globulina anti-humana, isto é, Lorne AHG Elite (número de catálogo: 435010 ou 415010) ou IgG anti-humana, ou seja, Lorne Anti-Human IgG (número de catálogo: 402010 ou 401010).
- Agente de lavagem de células Coombs.
- Bio-Rad ID-Cards (LISS/Coombs ou Coombs Anti-IgG).
- Bio-Rad ID-Centrifuge.
- Bio-Rad ID-CellStab ou ID-Diluent 2.
- Bio-Rad ID-Incubator calibrada para 37 °C ± 2 °C.
- 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).
- Cassetes do Ortho BioVue System (AHG Polyspecific ou AHG Anti-IgG).
- Centrifugadora Ortho BioVue System.
- Bloco de aquecimento do Ortho BioVue System calibrado para 37 °C ± 2 °C.
- Diluyente de hemácias Ortho a 0,8%.
- Solução PBS (pH 6,8–7,2) ou solução salina isotónica (pH 6,5–7,5).
- Hemácias de controlo positivo (idealmente heterozigótico) e controlo negativo.
- Pipetas volumétricas.
- Banho-maria ou incubadora de calor seco calibrada para 37 °C ± 2 °C.

TÉCNICAS RECOMENDADAS

A. Técnica de antiglobulina indireta (TAI)

- 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 37 °C durante 15 minutos.
- Lave as hemácias 1 vez com solução salina tamponada com fosfato (PBS) ou solução salina isotónica, tendo o cuidado de decantar a solução salina após a lavagem.
- Adicione 2 volumes de globulina anti-humana ou anti-IgG a cada botão de células secas.
- 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.
- Com cuidado, proceda à ressuspensão do botão de hemácias e leia macroscopicamente para deteção de aglutinação.
- Confirme a validade de todas as reações negativas com hemácias sensibilizadas com IgG.

B. Técnica Bio-Rad-ID (cartões LISS/Coombs)

1. Prepare uma suspensão a 0,8% de hemácias em ID-CellStab ou ID-Diluent 2.
2. Remova a película de alumínio dos microtubos necessários nos cartões LISS/Coombs ou Coombs Anti-IgG ID.
3. Coloque no microtubo apropriado: 50 µl de suspensão de hemácias e 25 µl de reagente Lorne.
4. Incube o(s) LISS/Coombs ID-Card(s) durante 15 minutos a 37 °C.
5. Centrifugue o(s) LISS/Coombs ID-Card(s) na Bio-Rad ID-Card Centrifuge.
6. Leia macroscopicamente para deteção de aglutinação.

C. Técnica Ortho BioVue (cassetes AHG)

1. Prepare uma suspensão a 0,8% de hemácias em diluente de hemácias Ortho a 0,8%.
2. Remova a película de alumínio das câmaras de reação necessárias nas cassetes AHG Polyspecific ou AHG Anti-IgG.
3. Coloque na câmara de reação apropriada: 50 µl de suspensão de hemácias e 40 µl de reagente Lorne.
4. Incube a(s) cassette(s) durante 15 minutos a 37 °C.
5. Centrifugue a(s) cassette(s) numa centrifugadora Ortho BioVue System.
6. 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 apropriado 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 apropriado nas hemácias.

ESTABILIDADE DAS REAÇÕES

1. Os passos de lavagem devem ser realizados sem interrupções e os testes devem ser centrifugados e lidos imediatamente após a adição do reagente. Os atrasos podem resultar na dissociação de complexos antígeno-anticorpo, causando resultados negativos falsos ou fracos positivos.
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. Em contrapartida, a supressão ou a reduzida expressão de determinados antígenos de grupos sanguíneos pode dar origem a reações negativas falsas, pelo que deverá ter-se sempre precaução ao atribuir genótipos com base nos resultados dos testes.
3. 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 **Técnicas recomendadas**.
2. Eventuais desvios relativamente às **Técnicas recomendadas** devem ser validados antes da utilização⁶.

BIBLIOGRAFIA

1. Widman FK. Technical Manual, 9th Edition. American Association of Blood Banks, Arlington, VA, 1985; Chapter 8
2. Race RR, Sanger R. Blood Groups in Man, 6th Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1975; Chapter 2
3. Mollison PL. Blood Transfusion in Clinical Medicine, 8th Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1987; Chapter 7
4. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6
5. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. H.M.S.O. Current Edition.
6. 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

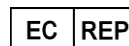
	Tamanho do frasco	Número de catálogo	Testes por frasco
Anti-Fya Monoclonal	2 ml	774002	40

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.
	Representante 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