

REAGENTES DE DETERMINAÇÃO DOS GRUPOS SANGÜÍNEOS HUMANOS INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Anti-Kp^a Polyclonal e Anti-Kp^b Polyclonal: Para técnicas de antiglobulina indiretas.

RESUMO

Os antígenos Kp^a e Kp^b foram descritos em 1957 e 1958, respetivamente. Os antígenos do sistema Kell estão completamente desenvolvidos quando do nascimento. Os anticorpos anti-Kp^a e anti-Kp^b têm sido implicados em reações transfusionais hemolíticas e na doença hemolítica do recém-nascido.

Anti-Kp ^a	Anti-Kp ^b	Fenótipo	Caucasianos ¹	Afroamericanos ¹
+	0	Kp(a+b-)	Raro	0%
+	+	Kp(a+b+)	2,3%	Raro
0	+	Kp(a-b+)	97,7%	100%
0	0	K ₀	Muito raro	Muito raro

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

Os reagentes são reagentes de determinação do grupo sanguíneo, destinados a serem utilizados para determinar qualitativamente a presença ou ausência dos antígenos Kp^a (KEL3) ou Kp^b (KEL4) 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

Os reagentes contêm anticorpos contra os antígenos Kp^a ou Kp^b em hemácias humanas e causarão a aglutinação (agregação) indireta de hemácias humanas portadoras do antígeno Kell correspondente, na fase antiglobulina do teste. A não ocorrência de aglutinação (ausência de agregação) indica, geralmente, a ausência do antígeno Kell correspondente (consulte **Limitações**).

REAGENTES

Os reagentes de determinação do grupo sanguíneo Lorne Human Anti-Kell são preparados a partir de soro humano diluído numa solução de cloreto de sódio com potenciadores macromoleculares (1,9 g%) e albumina bovina (4,4 g%). 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**.

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.
- O plasma a partir do qual este reagente é fabricado já não está isento de lípidos, pelo que é normal que o reagente tenha uma aparência turva.
- 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**, disponível mediante pedido.

CONTROLOS E RECOMENDAÇÕES

- Recomenda-se que seja testado um controlo positivo (idealmente células heterozigóticas) 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.
- As técnicas de antiglobulina apenas podem ser consideradas válidas se todos os testes negativos reagirem positivamente com hemácias sensibilizadas com IgG.
- Os reagentes contêm potenciadores macromoleculares, que podem provocar reações positivas falsas com células sensibilizadas com IgG; recomenda-se que as células do doente sejam testadas com plasma do doente, para testar reações positivas falsas.
- 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.

REAGENTES E MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

Técnica em tubo

- 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.
- Tubos de teste de vidro (10 x 75 mm ou 12 x 75 mm).
- Solução PBS (pH 6,8–7,2) ou solução salina isotónica (pH 6,5–7,5).
- Hemácias sensibilizadas com IgG, ou seja, Lorne Coombs Control Cells (número de catálogo: 970010).
- Hemácias de controlo positivo (idealmente heterozigótico) e controlo negativo.
- Banho-maria ou incubadora de calor seco calibrada para 37 °C ± 2 °C.

Técnica de microtipagem Bio-Rad-ID

- 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.

Técnica de tipagem Ortho BioVue

- 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%.

Todas as técnicas

- Pipetas volumétricas.

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 4 vezes com solução salina tamponada com fosfato (PBS) ou solução salina isotónica, tendo o cuidado de decantar a solução salina entre lavagens e de ressuspender cada botão de hemácias após cada lavagem. Decante completamente a solução salina após a última 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 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 cartões LISS/Coombs ou Coombs Anti-IgG ID.
- Coloque no microtubo apropriado: 50 µl de suspensão de hemácias e 25 µl de reagente Lorne.
- Incube o(s) ID-Card(s) durante 15 minutos a 37 °C.
- Centrifugue o(s) ID-Card(s) numa Bio-Rad ID Centrifuge.
- Leia macroscopicamente para deteção de aglutinação.

C. Técnica de tipagem Ortho BioVue

- Prepare uma suspensão a 0,8% de hemácias em Ortho Red Cell Diluent a 0,8%.
- Remova a película de alumínio das câmaras de reação necessárias nas cassetes AHG Polyspecific ou AHG Anti-IgG.
- Coloque na câmara de reação apropriada: 50 µl de suspensão de hemácias e 40 µl de reagente Lorne.
- Incube a(s) cassette(s) durante 15 minutos a 37 °C.
- Centrifugue a(s) cassette(s) durante 5 minutos numa centrifugadora Ortho BioVue System.
- Leia macroscopicamente para deteção de aglutinação.

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 Kell 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 do antígeno Kell apropriado nas hemácias.

ESTABILIDADE DAS REAÇÕES

- 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.
- Deve ter-se precaução na interpretação dos resultados de testes realizados a temperaturas que não as recomendadas.

LIMITAÇÕES

- 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**.
- Anticorpos que visam antígenos de baixa frequência podem ocorrer como contaminantes insuspeitos em anti-soros de determinação do grupo sanguíneo. Além disso, certos antígenos (p. ex., Bg, Sdⁿ) podem estar presentes num estado exaltado em hemácias. Estes fenómenos podem ser a origem de reações positivas falsas raras, as quais podem ocorrer com mais do que um lote de uma determinada especificidade.
- Não é possível alegar a ausência de todos os anticorpos contaminantes, uma vez que nem sempre estão disponíveis para teste hemácias portadoras de antígenos de baixa frequência ou de antígenos exaltados.
- 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.
- 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

- Antes da libertação, cada lote destes reagentes 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).
- Foi excluída a presença de anticorpos contaminantes de antígenos com uma incidência igual ou superior a 1% na população aleatorizada, em

testes que empregaram hemácias negativas para o antígeno apropriado ou em testes que empregaram os reagentes previamente absorvidos para remover as especificidades interferentes.

- Anticorpos contra o Xg^a, Do^a, Yt^a, Co^b, Wr^a, Bg^a e V^w não são de excluir em testes de especificidade de rotina, e a deteção dos mesmos dependerá da disponibilidade de células de teste apropriadas. O mesmo se pode dizer relativamente ao Yt^b, M^b, V^w e outros antígenos de baixa frequência, os quais não são de excluir em testes de especificidade de rotina, dependendo a deteção dos mesmos da disponibilidade de células de teste apropriadas.
- 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^o.

BIBLIOGRAFIA

- Marion E. Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 186.
- Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6.
- AABB Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6th Edition 2002. The Stationary Office.
- 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.

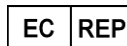
APRESENTAÇÕES DISPONÍVEIS DO REAGENTE

	Tamanho do frasco	Número de catálogo	Testes por frasco
Anti-Kp ^a Polyclonal	2 ml	321002	40
	1000 ml	321000*	20 000
Anti-Kp ^b Polyclonal	2 ml	322002	40
	1000 ml	322000*	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



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