

REAGENTES MONOCLONAIS DE DETERMINAÇÃO DO GRUPO SANGUÍNEO
INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Anti-M Monoclonal: Para técnicas em tubo, Bio-Rad-ID, Ortho BioVue e placa de microtitulação.

RESUMO

O antígeno M faz parte do sistema MNS e foi descrito pela primeira vez em 1927. A expressão do antígeno M em hemácias pode demonstrar dosagem. O Anti-M tem sido raramente implicado na doença hemolítica do recém-nascido ou em reações transfusionais hemolíticas.

Anti-M	Anti-N	Fenótipo	Caucasianos ¹	Afroamericanos ¹
+	0	M+N-	28%	25,4%
+	+	M+N+	50%	48,4%
0	+	M-N+	22%	26,7%

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

Este reagente é um reagente de determinação do grupo sanguíneo destinado a ser utilizado para determinar qualitativamente a presença ou ausência do antígeno M 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 M em hemácias humanas e causa a aglutinação (agregação) direta de hemácias humanas portadoras do antígeno M. A não ocorrência de aglutinação (ausência de agregação) indica, geralmente, a ausência do antígeno M (**Limitações**).

REAGENTES

O reagente monoclonal de determinação do grupo sanguíneo Lorne Monoclonal Anti-M é um reagente que contém um anticorpo IgG monoclonal murino (clone n.º LM110/140), diluído num tampão fosfato com cloreto de sódio (0,6 g%), albumina bovina (4,0 g%) e um conservante. 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 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 não tamponada 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 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 heterozigótico) 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.
- Ao classificar o tipo de 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 Lorne (número de catálogo: 650010). Os testes devem ser considerados inválidos se as hemácias se aglutinarem utilizando o Controlo Negativo Lorne.
- 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.
- Nas **Técnicas recomendadas**, 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 o reagente é utilizado.
- O utilizador tem de determinar a adequabilidade dos reagentes para utilização com outras técnicas.

REAGENTES E MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

Técnica em tubo

- Centrifugadora capaz de girar a 1000 g durante 20 segundos.
- Tubos de teste de vidro (10 x 75 mm ou 12 x 75 mm).
- Hemácias de controlo positivo (idealmente M+N+) e controlo negativo (N+N+).

Técnica de microtipagem Bio-Rad-ID

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

Técnica de tipagem Ortho BioVue

- Cassetes do Ortho BioVue System (neutras).
- Centrifugadora Ortho BioVue System.

Técnica em placa de microtitulação

- Placas de microtitulação de poço em "U" validadas.
- Centrifugadora para placa de microtitulação.
- Agitador de placas.

Todas as técnicas

- Pipetas volumétricas.
- Solução salina não tamponada.

TÉCNICAS RECOMENDADAS

A. Técnica em tubo

- Prepare uma suspensão a 2–3% de hemácias em solução salina não tamponada (**consulte LIMITAÇÕES**).
- Coloque num tubo de teste rotulado: 1 volume de reagente Lorne e 1 volume de suspensão de hemácias.
- 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 tipagem Ortho BioVue (cassetes neutras)

- Prepare uma suspensão a 0,8% de hemácias em solução salina não tamponada (**consulte LIMITAÇÕES**).
- Remova a película de alumínio das câmaras de reação nas cassetes neutras necessárias.
- Coloque na câmara de reação apropriada: 50 µl de suspensão de hemácias e 40 µl de reagente Lorne.
- Centrifugue a(s) cassette(s) numa centrifugadora Ortho BioVue.
- Leia macroscopicamente para deteção de aglutinação.

C. Técnica de microtipagem Bio-Rad ID

1. Prepare uma suspensão a 0,8% de hemácias em solução salina não tamponada (**consulte LIMITAÇÕES**).
2. Remova a película de alumínio dos microtubos necessários nos ID-Card(s) de NaCl, testes enzimáticos e aglutininas frias.
3. Coloque no microtubo apropriado: 50 µl de suspensão de hemácias e 25 µl de reagente Lorne.
4. Centrifugue o(s) ID-Card(s) numa Bio-Rad ID Centrifuge.
5. Leia macroscopicamente para deteção de aglutinação.

D. Técnica de placa de microtitulação utilizando poços em "U"

1. Prepare uma suspensão a 2–3% de hemácias em solução salina não tamponada (**consulte LIMITAÇÕES**).
2. Coloque no poço apropriado: 1 volume de reagente Lorne e 1 volume de suspensão de hemácias.
3. Misture bem, utilizando preferencialmente um agitador de microplacas, tendo o cuidado de evitar a contaminação cruzada entre poços.
4. Incube a temperatura ambiente durante 15 minutos (tempo dependente do utilizador).
5. Centrifugue a microplaca durante 1 minuto a 140 rcf ou utilizando um período de tempo e uma força alternativos adequados.
6. Proceda à ressuspensão dos botões de hemácias, utilizando agitação cuidadosamente controlada, num agitador de microplacas.
7. Leia macroscopicamente ou com um leitor automático validado.
8. Eventuais reações fracas deverão ser repetidas empregando a técnica em tubo.

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 M 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 M nas hemácias.

ESTABILIDADE DAS REAÇÕES

1. Os testes em tubo têm de ser lidos imediatamente após a centrifugação. Os atrasos podem causar a 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. Este reagente reage idealmente com antígenos M a um pH de 8,5. Embora o reagente contenha um tampão ideal para este pH, devem ser tidos em consideração os seguintes aspetos:
 - As suspensões de hemácias em meios tamponados (p. ex., Alsevers) devem ser lavadas 3 vezes, no mínimo, em solução salina não tamponada antes da utilização.
 - A utilização de meios tamponados para lavagem ou criação de suspensões de hemácias pode dar origem a resultados de teste falsos e deverá ser evitada.
 - Não deverá ser utilizada solução salina não tamponada com um pH inferior a 6 para lavar ou criar suspensões de hemácias.
2. Não podem ser utilizadas células modificadas por enzimas proteolíticas, pois os antígenos MN poderão ter sido destruídos.
3. 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 fenótipos com base nos resultados dos testes.
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 deste 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 que tinham sido lavadas com solução salina não tamponada antes da utilização.

ISENÇÃO DE RESPONSABILIDADE

1. O utilizador 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 utilização⁵.

BIBLIOGRAFIA

1. Marion E. Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 190.
2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 14.
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

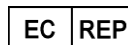
	Tamanho do frasco	Número de catálogo	Testes por frasco
Anti-M Monoclonal	2 ml	772002	40
	1000 ml	772000*	20 000

*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