



REAGENTES LECTIN DE DETERMINAÇÃO DO GRUPO SANGUÍNEO INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Anti-N Lectin: para técnicas em tubo e Bio-Rad-ID.

RESUMO

O antígeno N faz parte do sistema MNSs e foi descrito em 1927. Geralmente, os anticorpos anti-N reagem à temperatura ambiente, pelo que raramente estão implicados em reações transfusionais hemolíticas e na doença hemolítica do recém-nascido.

Anti-M	Anti-N	Fenótipo	Caucasianos ¹	Afroamericanos ¹
+	0	M+N-	28%	25,5%
+	+	M+N+	50%	48,4%
0	+	M-N+	22%	26,7%

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 N (MNS2) 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 glicoproteínas originárias da folha de *Vicia unijuga* que provocam, após centrifugação, a aglutinação (agregação) de hemácias portadoras do antígeno N. A não ocorrência de aglutinação (ausência de agregação) indica, geralmente, a ausência do antígeno N (consulte Limitações).

REAGENTE

O reagente de determinação do grupo sanguíneo Lorne Anti-N Lectin é preparado a partir de um extrato de folhas de *Vicia unijuga*, diluído com uma solução de cloreto de sódio que contém 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**.

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 a utilização e 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 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

- O reagente destina-se apenas a utilização em diagnóstico *in vitro*.
- Se um frasco de reagente estiver partido ou apresentar fugas, elimine o conteúdo imediatamente.
- Não utilize o reagente após o prazo de validade (consulte o **rótulo do frasco**).
- Não utilize o reagente se estiver presente precipitado.
- Ao manusear reagentes deve utilizar-se vestuário de proteção, como luvas descartáveis e uma bata de laboratório.
- 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.
- 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, exagure 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.
- Os materiais bovinos são obtidos de fontes para as quais estão disponíveis informações sobre a origem. Os animais doadores de material bovino foram inspecionados e certificados como sendo isentos de doenças e considerados como tendo um baixo risco de encefalopatia espongiiforme transmissível (EET).
- Assim que o conteúdo do frasco for utilizado, elimine o frasco vazio num contentor amarelo de resíduos para queima.

ELIMINAÇÃO DO REAGENTE E CONTROLO DE DERRAMES

Faça a gestão dos resíduos de acordo com os regulamentos locais, estaduais e nacionais. Para obter mais informações sobre a eliminação do reagente e a descontaminação de um derrame, consulte a **Ficha de Dados de Segurança de Materiais**, 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.
- 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 pessoal qualificado e com 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.
- O reagente é utilizado num procedimento de teste manual. O utilizador final é responsável por determinar a adequabilidade do dispositivo para outras técnicas e/ou sistemas de teste.
- Quando aplicável, é necessária a utilização de equipamento calibrado ou verificado.
- Se tiver ocorrer um incidente grave (conforme definido nos regulamentos relevantes) que possa ser atribuído ao reagente da Lorne, o utilizador final do reagente deve comunicar imediatamente o sucedido ao fabricante e à autoridade competente do país onde o acidente ocorreu.

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 para tubos de teste capaz de girar a 1000 g durante 20 segundos.
- Banho-maria ou incubadora de calor seco calibrada para 37 °C ± 2 °C.
- Solução PBS (pH 6,8–7,2) ou solução salina isotónica (pH 6,5–7,5).
- Hemácias de controlo positivo (idealmente M+N+) e controlo negativo (M+M+).

Técnica de microtipagem Bio-Rad-ID

- Bio-Rad ID-Cards (NaCl, teste enzimático e aglutininas frias).
- Bio-Rad ID-Centrífuge.
- Bio-Rad ID-CellStab ou ID-Diluent 2.
- Bio-Rad ID-Incubator calibrada para 37 °C ± 2 °C.

Todas as técnicas

- Pipetas volumétricas.

TÉCNICAS RECOMENDADAS

A. Técnica em tubo

- 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.
- 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 em ID-CellStab ou ID-Diluent 2.
- Remova a película de alumínio dos microtubos necessários nos ID-Card(s) de NaCl Bio-Rad, teste enzimático e aglutininas frias.
- 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 Centrífuge.
- Leia macroscopicamente para deteção de aglutinação.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS DE TESTE

- Positivo:** a aglutinação de hemácias constitui um resultado de teste positivo e dentro das limitações aceites do procedimento de teste, indicando a presença de antígeno N 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 N nas hemácias.

ESTABILIDADE DAS REAÇÕES

- Os testes em tubo têm de ser lidos imediatamente após a centrifugação. Os atrasos podem causar a dissociação de complexos antigénio-anticorpo, conduzindo a reações negativas falsas ou positivas fracas.
- Deve ter-se precaução na interpretação dos resultados de testes realizados a temperaturas que não as recomendadas.

LIMITAÇÕES

- Em caso de resultados ambíguos, recomenda-se lavar as hemácias, pelo menos, 2 vezes.
- O sangue armazenado pode dar origem a reações mais fracas do que o sangue fresco.
- Também podem ocorrer resultados positivos falsos ou negativos falsos devido a:
 - Contaminação dos materiais de teste
 - Conservação, concentração de células, tempo de incubação ou temperatura inadequados
 - Centrifugação inadequada ou excessiva
 - Desvio das técnicas recomendadas

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO ESPECÍFICAS

- O reagente destina-se a ser utilizado em amostras de sangue humano.
- 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 nas "Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom" (Linhas de Orientação para os Serviços de Transusão de Sangue no Reino Unido).
- 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 tamponada com fosfato (PBS) ou solução salina isotónica antes da utilização.

ISENÇÃO DE RESPONSABILIDADE

- O utilizador é responsável pelo desempenho do reagente quando utilizado em qualquer outro método que não os mencionados em **Técnica recomendada**.
- Eventuais desvios relativamente às **Técnicas recomendadas** devem ser validados antes da utilização⁵.

BIBLIOGRAFIA

- Marion E. Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 190.
- Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 14.
- 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-N Lectin	2 ml	312002	40
	1000 ml	312000*	20 000

*Esta apresentação é apenas para Utilização em Fabrico Posterior (FFMU, For Further Manufacturing Use), pelo que não possui a marca CE/UKCA.

TABELA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Definição	Símbolo	Definição
	Fabricante	REF	Número de catálogo
	Limite de temperatura		Utilizar até AAAA-MM-DD
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>		Consultar as instruções de utilização.
EC REP	Representante autorizado	LOT	Número de lote
	Não esterilizado		



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

EC REP

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