

**MÉTODO**

Imunohematologia

FINALIDADEReagentes para determinação da tipagem sanguínea. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.**SORO ANTI-A**

Finalidade: soro para classificação do tipo sanguíneo A no sistema ABO.

Metodologia: aglutinação.

SORO ANTI-AB

Finalidade: soro para controle da reação direta do sistema ABO.

Metodologia: aglutinação.

SORO ANTI-B

Finalidade: soro para classificação do tipo sanguíneo B no sistema ABO.

Metodologia: aglutinação.

FUNDAMENTO

O sistema ABO foi descoberto por Landsteiner em 1901 e é representado por quatro grupos principais, A, B, AB e O.

O grupo sanguíneo de um indivíduo é determinado pelo teste das hemácias com Anti-A e com Anti-B. O uso adicional do reagente Anti-AB facilita o reconhecimento de certos subgrupos raros e também para confirmação do grupo sanguíneo ABO. Os anticorpos Anti-A e Anti-B podem causar sérias reações hemolíticas transfusionais assim como a Doença Hemolítica do recém nascido. Sendo assim, existe a necessidade de se testar tanto o sangue do receptor quanto do doador para a presença dos antígenos A e/ou B. Qualquer discrepância entre os resultados da tipagem direta e reversa devem ser investigados antes de registrar os resultados.

PRINCÍPIO DO TESTE

Os reagentes causam aglutinação direta macroscópica das hemácias que carregam os antígenos correspondentes. As hemácias que possuem o antígeno B se aglutinam quando misturadas ao reagente Anti-B e as hemácias que possuem o antígeno A se aglutinam quando misturadas ao reagente Anti-A.

O teste adicional empregando-se o reagente Anti-AB facilita o reconhecimento de subgrupos raros de baixa reatividade, aglutinando as hemácias dos grupos A, B e AB mas não as do grupo O.

IDENTIFICAÇÃO DOS REAGENTES

Este reagente foi obtido através de linhagens de células de hibridoma de camundongo em cultura de célula, contém em sua formulação 0,1% de azida sódica como conservante e anticorpos monoclonais.

Anti-A: líquido azul

Anti-B: líquido amarelo

Anti-AB: líquido levemente amarelado

MATERIAL NECESSÁRIO E NÃO FORNECIDO:

- Lâminas de vidro para reação (para Técnica em Lâminas);
- Tubos para coleta de sangue total;
- Tubo de ensaio para reação 10 x 75 ou 12 x 75 mm (para Técnica em Tubo);
- Solução Fisiológica 0,9%;
- Centrífuga (para Técnica em Tubo);
- Pipetas e Ponteiras.

ESTABILIDADE

Conservar entre 2 a 8 °C.

Não congelar ou expor o produto a temperaturas elevadas.

São reagentes diagnósticos para uso "in vitro", por quaisquer procedimentos técnicos descritos nesta instrução de uso.

Utilizar o reagente com cuidado para manter a esterilidade dos produtos.

Não utilizar os reagentes que apresentarem turvação. Não pipetar com a boca.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

- Aplicar os cuidados habituais de segurança na manipulação dos reagentes e amostra biológica.
- Recomendamos o uso das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos para a execução do teste.
- De acordo com as instruções de biossegurança, todas as amostras devem ser manuseadas como materiais potencialmente infectantes.
- O reagente contém azida de sódio que pode reagir com cobre e chumbo dos encanamentos formando sais explosivos.
- Descartar os reagentes e as amostras de acordo com as resoluções normativas locais, estaduais e federais de preservação do meio ambiente.
- É recomendado que a coleta, preparação, armazenamento e descarte das amostras biológicas sejam realizadas seguindo as recomendações das Boas Práticas de Laboratórios Clínicos.
- Os erros provenientes da amostra podem ser muito maiores do que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

COLETA E PREPARO DAS AMOSTRAS

Não é necessário nenhum preparo especial do paciente para a coleta da amostra.

O sangue deve ser colhido com técnica asséptica, com ou sem anticoagulante e o soro separado o mais breve possível para realização dos testes.

As hemácias obtidas de coágulo podem ser tipadas em 5 dias após sangria.

As amostras coletadas em EDTA ou Heparina devem ser tipadas em até 48 horas.

Se a demora para a execução do teste for inevitável, hemácias de sangue coagulado e as colhidas em EDTA ou heparina devem ser separadas do soro/plasma, lavadas e ressuspendidas em solução preservativa de glóbulos.

Armazenar entre 2 a 8°C por no máximo 20 dias. O armazenamento prolongado de hemácias antes da execução do teste pode causar deterioração de antígenos e resultar em reações mais fracas.

PROCEDIMENTO DO TESTE**Técnica em Lâmina:**

1. Preparar uma suspensão de eritrócitos a 10% em solução fisiológica 0,9%.
2. Colocar uma gota do reagente na lâmina à temperatura ambiente (20 a 25°C).
3. Adicionar uma gota da suspensão de eritrócitos (50µL).
4. Misturar o reagente com a suspensão em uma área de 2 x 2 cm.
5. Movimentar gentilmente a lâmina para promover a mistura e examinar a presença ou não de aglutinação.
6. Os testes que não apresentarem aglutinação, deverão ser observados por 2 minutos e não mais. Não interpretar secagem periférica como aglutinação.

Técnica em Tubo:

1. Preparar uma suspensão a 3 - 5% das hemácias a serem testadas, em solução fisiológica 0,9%, em seu próprio soro ou plasma.
2. Colocar uma gota dos reagentes em um tubo devidamente identificado.
3. Acrescentar uma gota da suspensão ao tubo (50µL). Misture bem o conteúdo.
4. Centrifugar por 15 segundos a 3400 rpm (900 - 1000g) ou 1 minuto a 1000 rpm (100 - 125g)
5. Examinar a ausência de hemólise e ressusender o botão de hemácias, agitando delicadamente o tubo, observando a presença ou não de aglutinação.
6. Graduar e registrar os resultados.

OBS.: a calibração adequada das centrífugas é imprescindível para a garantia da qualidade dos resultados.

Os testes para classificação ABO nunca devem ser incubados à 37°C.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Positivo: excluindo-se as limitações do teste, a aglutinação dos eritrócitos pelo reagente indica a presença de antígeno correspondente.

Negativo: excluindo-se as limitações do teste, a ausência de aglutinação dos eritrócitos pelo reagente indica a ausência de antígeno correspondente.

A tabela seguinte fornece os padrões de reações dos fenótipos ABO mais comuns.

Classificação Direta			Classificação reversa		Grupo
Anti-A	Anti-B	Anti-AB	A1	B	ABO
+	0	+	0	+	A
0	+	+	+	0	B
0	0	0	+	+	0
+	+	+	0	0	AB

OBS.: Qualquer discrepância entre a prova direta e a prova reversa deve ser resolvida antes da liberação do resultado de grupo sanguíneo.

CONTROLE DA QUALIDADE

O laboratório clínico deve manter um Programa de Garantia da Qualidade para assegurar que todos os procedimentos laboratoriais sejam realizados de acordo com as Boas Práticas de Laboratórios Clínicos.

LIMITAÇÕES DO TESTE

- Reações fracas podem ocorrer quando: recém-nascidos que não tenham antígenos A ou B bem expressos, nas leucemias e outras doenças malignas, pacientes recentemente transfundidos e detecção fraca das variantes A ou B que requerem leitura microscópica.

- Na presença de crioaglutininas, lavar os eritrócitos de 4 a 6 vezes com solução fisiológica 0,9% aquecida a 37°C, para permanecer somente os caracteres ABO.

- O antígeno B pode ser ocasionalmente adquirido em pacientes do grupo A, devido a desacetilação do antígeno A por enzimas bacterianas, particularmente associadas com infecção intestinal. Estes pacientes serão aparentemente AB com a presença de anti-B no sangue. A redução do pH do sangue para 6.0 reduzirá ou eliminará o antígeno B adquirido.

- Em algumas patologias é comum a formação de aglutinação das hemácias observadas à microscopia. Esta anormalidade é causada por alterações na superfície das células. Este fenômeno é habitualmente encontrado nas hiperproteinemias tais como Mieloma Múltiplo, Macroglobulinemia de Waldenstrom, Síndrome de Hiperviscosidade e Cirrose.
- Resultados falso-positivos ou reações fracamente positivas podem ocorrer com amostras de sangue de subgrupos A e B ou após estocagem prolongada.
- Variáveis relativas ao procedimento técnico, tais como: técnica, suspensões muito concentradas ou diluídas, centrifugações ou incubações inadequadas, amostra e salina contaminadas ou vidraria suja podem causar falsas reações positivas ou negativas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Evaluation of Monoclonal Antibodies to Blood Group A.S. Moore et al. Int. Symp. On Monoclonal Antibodies: Standardization of their characterization and use, Paris, France 1983. Develop. Biol. Standard. Vol. 57, pp. 49-54.
2. A Monoclonal Antibody to Human Blood Group B. S. Moore et. at. Int. Symp. On Monoclonal Antibodies: Standardization of their characterization and use, Paris, France 1983. Develop. Biol. Standard. Vol. 57, pp. 55 - 59.
3. A Mouse Monoclonal Antibody with Anti-A (B) Specificity Which Agglutinates Ax Cells. S. Moore et al. Vox Sang 1984. Vol. 47, pp. 427 - 434.
4. Widmann F.K. ed Technical Manual 9th Edition Washington D.C. American Association of Blood Banks 1985 Chapter 8.
5. Race R.R. and Sanger R. Blood Groups in Man 6th Edition Oxford Blackwell Scientific Publications 1975.
6. Issitt P.D. Applied Blood Group Serology 3rd Edition Montgomery Scientific publications Miami, Florida USA 1985.
7. Walker Rh, ed. Technical manual. 11th edition. Bethesda: AABB, 1993.
8. Mollison PL. Blood Transfusion in clinical medicine. 7th edition. Oxford: Blackwell Scientific, 1983.
9. Guidelines for the Blood Transfusion Servie H.M.S.O.
10. GOLD ANALISA: Dossiê Técnico do Produto.

TERMOS E CONDIÇÕES DE GARANTIA DA QUALIDADE DO PRODUTO

Lei nº 8.078 de 11-9-90 - Código de Defesa do Consumidor

A Gold Analisa garante a substituição, sem ônus para o consumidor, de todos os produtos que comprovadamente apresentarem problemas técnicos, desde que o usuário utilize equipamentos e materiais em boas condições técnicas, siga rigorosamente o procedimento técnico e as recomendações estabelecidas nas Instruções de Uso.

Nº do lote e data de validade: Vide Rótulos do Produto

Gold Analisa Diagnóstica Ltda - CNPJ: 03.142.794/0001-16

AF MS Nº 800222-3 - Reg. MS - Nº 80022230263

Farm. Resp. Isabela Fernandes dos Santos - CRF-MG 16773

Av. Nossa Senhora de Fátima, 2363 - Carlos Prates - Fone: (31) 3272-1888

Belo Horizonte MG Brasil CEP: 30710-020



Home page: www.goldanalisa.com.br

E-mail: goldanalisa@goldanalisa.com.br

Setor de Apoio ao Cliente (SAC): 0800 703 1888

Analisa é marca registrada da Gold Analisa Diagnóstica Ltda

SIMBOLOGIA

	Número do catálogo		Limite de temperatura
	Número do lote		Quantidade de testes
	Produto para diagnóstico <i>in vitro</i>		Consultar as instruções de uso
	Data limite de utilização		Fabricado por

Revisão: 08/22



MÉTODO

inmunohematología

META

Reactivos para determinar el tipo de sangre. Sólo para uso diagnóstico in vitro.

SERUM ANTI-A

Propósito: suero para la clasificación del tipo de sangre A en el sistema ABO.
Metodología: aglutinación.

SUERO ANTI-AB

Propósito: suero para controlar la reacción directa del sistema ABO.
Metodología: aglutinación.

SERUM ANTI-B

Propósito: suero para la clasificación del tipo de sangre B en el sistema ABO.
Metodología: aglutinación.

RAZÓN FUNDAMENTAL

El sistema ABO fue descubierto por Landsteiner en 1901 y está representado por cuatro grupos principales, A, B, AB y O. El grupo sanguíneo de una persona se determina analizando los glóbulos rojos con Anti-A y Anti-B. El uso adicional del reactivo Anti-AB facilita el reconocimiento de ciertos subgrupos raros y también para la confirmación del grupo sanguíneo ABO. Los anticuerpos anti-A y anti-B pueden causar reacciones transfusionales hemolíticas graves, así como la enfermedad hemolítica del recién nacido. Por lo tanto, es necesario analizar tanto la sangre del receptor como la del donante para detectar la presencia de antígenos A y/o B. Cualquier discrepancia entre los resultados de la tipificación directa e inversa debe investigarse antes de registrar los resultados.

PRINCIPIO DE PRUEBA

Los reactivos provocan la aglutinación macroscópica directa de los glóbulos rojos que portan los antígenos correspondientes. Los glóbulos rojos que tienen el antígeno B se aglutinan cuando se mezclan con el reactivo Anti-B, y los glóbulos rojos que tienen el antígeno A se aglutinan cuando se mezclan con el reactivo Anti-A. La prueba adicional que utiliza el reactivo Anti-AB facilita el reconocimiento de subgrupos raros de baja reactividad, aglutinando los glóbulos rojos de los grupos A, B y AB pero no los del grupo O.

IDENTIFICACIÓN DE REACTIVOS

Este reactivo fue obtenido a través de líneas celulares de hibridoma de ratón en cultivo celular, contiene en su formulación azida de sodio al 0,1% como conservante y anticuerpos monoclonales.
Anti-A: líquido azul
Anti-B: líquido amarillo
Anti-AB: líquido ligeramente amarillento

MATERIAL NECESARIO Y NO SUMINISTRADO:

- Portaobjetos de vidrio de reacción (para técnica de portaobjetos);
- Tubos para la recogida de sangre entera;
- Tubo de ensayo para reacción 10 x 75 o 12 x 75 mm (para Tube Technique);
- Solución Fisiológica 0,9%;
- Centrifuga (para Técnica de Tubo);
- Pipetas y Puntas.

ESTABILIDAD

Conservar de 2 a 8 °C.
No congelar ni exponer el producto a altas temperaturas.
Son reactivos de diagnóstico para uso "in vitro", por cualquiera de los procedimientos técnicos descritos en estas instrucciones de uso.
Utilice el reactivo con cuidado para mantener la esterilidad de los productos.
No utilice reactivos que muestren turbidez. No pipetear con la boca.

PRECAUCIONES Y PRECAUCIONES ESPECIALES

- Aplique las precauciones de seguridad habituales al manipular reactivos y muestras biológicas.
- Recomendamos el uso de Buenas Prácticas de Laboratorio Clínico para realizar la prueba.
- De acuerdo con las instrucciones de bioseguridad, todas las muestras deben manipularse como materiales potencialmente infecciosos.
- El reactivo contiene azida de sodio que puede reaccionar con el cobre y el plomo en las tuberías para formar sales explosivas.
- Deseche los reactivos y las muestras de acuerdo con las reglamentaciones ambientales locales, estatales y federales.
- Se recomienda que la recolección, preparación, almacenamiento y disposición de muestras biológicas se realice siguiendo las recomendaciones de las Buenas Prácticas de Laboratorios Clínicos.
- Los errores que surgen de la muestra pueden ser mucho mayores que los errores que ocurren durante el procedimiento analítico.

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

No se requiere preparación especial del paciente para la recolección de muestras. La sangre debe recolectarse utilizando una técnica aséptica, con o sin anticoagulante, y el suero debe separarse lo antes posible para su análisis. Los glóbulos rojos obtenidos de los coágulos se pueden tipificar dentro de los 5 días posteriores al sangrado. Las muestras recogidas en EDTA o heparina deben tipificarse en un plazo de 48 horas. Si el retraso en la realización de la prueba es inevitable, los glóbulos rojos coagulados y los recogidos en EDTA o heparina deben separarse del suero/plasma, lavarse y resuspenderse en una solución conservante de glóbulos. Conservar entre 2 y 8°C durante un máximo de 20 días. El almacenamiento prolongado de glóbulos rojos antes de la prueba puede causar el deterioro del antígeno y provocar reacciones más débiles.

PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

Técnica de la hoja:

1. Preparar una suspensión de eritrocitos al 10% en solución salina al 0,9%.
2. Coloque una gota de reactivo en el portaobjetos a temperatura ambiente (20 a 25 °C).
3. Agregue una gota de la suspensión de eritrocitos (50 µL).
4. Mezclar el reactivo con la suspensión en un área de 2 x 2 cm.
5. Mueva suavemente el portaobjetos para promover la mezcla y examine la presencia o ausencia de aglutinación.
6. Las pruebas que no muestren aglutinación deben observarse durante 2 minutos y no más. No interprete el secado periférico como aglutinación.

Técnica de tubo:

1. Prepare una suspensión al 3 - 5% de los glóbulos rojos a analizar, en solución salina al 0,9%, en su propio suero o plasma.
 2. Coloque una gota de reactivos en un tubo debidamente etiquetado.
 3. Agregue una gota de suspensión al tubo (50 µL). Mezclar bien el contenido.
 4. Centrifugar durante 15 segundos a 3400 rpm (900 - 1000 g) o 1 minuto a 1000 rpm (100 - 125 g)
 5. Examinar la ausencia de hemólisis y resuspender el botón de glóbulos rojos, agitando suavemente el tubo, observando la presencia o ausencia de aglutinación.
 6. Califíquese y registre los resultados.
- OBS.: la correcta calibración de las centrifugas es fundamental para garantizar la calidad de los resultados.
Las pruebas para la clasificación ABO nunca deben incubarse a 37°C.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Positivo: excluyendo las limitaciones de la prueba, la aglutinación de eritrocitos por el reactivo indica la presencia del antígeno correspondiente.
Negativo: Excluyendo las limitaciones de la prueba, la ausencia de aglutinación de eritrocitos por el reactivo indica la ausencia del antígeno correspondiente.

La siguiente tabla proporciona los patrones de reacción de los fenotipos ABO más comunes.

Clasificación Directa			Clasificación inversa		Grupo
Anti-A	Anti-B	Anti-AB	A1	B	ABO
+	0	+	0	+	A
0	+	+	+	0	B
0	0	0	+	+	0
+	+	+	0	0	AB

NOTA: Cualquier discrepancia entre la prueba directa e inversa debe resolverse antes de que se publique el resultado del grupo sanguíneo.

CONTROL DE CALIDAD

El laboratorio clínico debe mantener un Programa de Garantía de Calidad para garantizar que todos los procedimientos de laboratorio se realicen de acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio Clínico.

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

- Las reacciones débiles pueden ocurrir cuando: recién nacidos que no tienen antígenos A o B bien expresados, en leucemias y otras neoplasias malignas, pacientes transfundidos recientemente y mala detección de variantes A o B que requieren lectura microscópica.
- En presencia de crioağlutininas, lavar los eritrocitos de 4 a 6 veces con solución salina al 0,9% calentada a 37°C, de forma que sólo queden los caracteres ABO.

- El antígeno B puede adquirirse ocasionalmente en pacientes del grupo A, debido a la desacetilación del antígeno A por enzimas bacterianas, particularmente asociado con infección intestinal. Estos pacientes aparentemente serán AB con la presencia de anti-B en la sangre. Reducir el pH de la sangre a 6,0 reducirá o eliminará el antígeno B adquirido.
- En algunas patologías es común la formación de aglutinación de glóbulos rojos observada al microscopio. Esta anomalía es causada por cambios en la superficie celular. Este fenómeno se encuentra comúnmente en hiperproteinemias como el mieloma múltiple, la macroglobulinemia de Waldenstrom, el síndrome de hiperviscosidad y la cirrosis.
- Pueden producirse resultados positivos falsos o reacciones positivas débiles con muestras de sangre de los subgrupos A y B o después de un almacenamiento prolongado.
- Variables relacionadas con el procedimiento técnico, tales como: técnica, suspensiones muy concentradas o diluidas, centrifugaciones o incubaciones inadecuadas, muestra contaminada y solución salina o cristalería sucia pueden provocar reacciones falsas positivas o negativas.









REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Evaluation of Monoclonal Antibodies to Blood Group A.S. Moore et al. Int. Symp. On Monoclonal Antibodies: Standardization of their characterization and use, Paris, France 1983. Develop. Biol. Standard. Vol. 57, pp. 49-54.
2. A Monoclonal Antibody to Human Blood Group B. S. Moore et. at. Int. Symp. On Monoclonal Antibodies: Standardization of their characterization and use, Paris, France 1983. Develop. Biol. Standard. Vol. 57, pp. 55 - 59.
3. A Mouse Monoclonal Antibody with Anti-A (B) Specificity Which Agglutinates Ax Cells. S. Moore et al. Vox Sang 1984. Vol. 47, pp. 427 - 434.
4. Widmann F.K. ed Technical Manual 9th Edition Washington D.C. American Association of Blood Banks 1985 Chapter 8.
5. Race R.R. and Sanger R. Blood Groups in Man 6th Edition Oxford Blackwell Scientific Publications 1975.
6. Issitt P.D. Applied Blood Group Serology 3rd Edition Montgomery Scientific publications Miami, Florida USA 1985.
7. Walker Rh, ed. Technical manual. 11th edition. Bethesda: AABB, 1993.
8. Mollison PL. Blood Transfusion in clinical medicine. 7th edition. Oxford: Blackwell Scientific, 1983.
9. Guidelines for the Blood Transfusion Servie H.M.S.O.
10. GOLD ANALISA: Dossiê Técnico do Produto.

**TÉRMINOS Y CONDICIONES DE LA GARANTÍA DE CALIDAD DEL PRODUCTO
Ley Nº 8078 del 11/09/90 - Código de Protección al Consumidor**

Gold Análise garantiza la reposición, sin cargo para el consumidor, de todos los productos que demuestren tener problemas técnicos, siempre que el usuario utilice equipos y materiales en buenas condiciones técnicas, siga estrictamente el procedimiento técnico y las recomendaciones establecidas en las Instrucciones de uso. Número de lote y fecha de caducidad: consulte las etiquetas del producto
 Gold Análise Diagnóstica Ltda - CNPJ: 03.142.794/0001-16
 AF MS No. 800222-3 - Reg. EM - Nº 80022230263
 Granja. respuesta Isabela Fernandes dos Santos - CRF-MG 16773
 AV. Nossa Senhora de Fátima, 2363 - Carlos Prates - Teléfono: (31) 3272-1888
 Belo Horizonte MG Brasil CEP: 30710-020
 Página de inicio: www.goldanalisa.com.br
 Correo electrónico: goldanalisa@goldanalisa.com.br
Sector de Atención al Cliente (SAC): 0800 703 1888

Análise es una marca registrada de Gold Análise Diagnóstica Ltda.

SIMBOLOGIA			
	Número de catálogo		Limite de temperatura
	Número de lote		Número de pruebas
	Producto de diagnóstico in vitro		Consultar instrucciones de uso
	Plazo de uso		Fabricado por

Revisão: 08/22