

Determinación cualitativa de antígeno A y/o B en hemáticas humanas IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

El reactivo provocará una aglutinación directa de los hemáticos que lleven el correspondiente antígeno ABO. La no aglutinación indica en general la ausencia de antígenos ABO (ver limitaciones).

SIGNIFICADO CLÍNICO

En 1900, Landsteiner descubrió que el suero de algunas personas podía aglutinar los hemáticos de otras. Actualmente están reconocidos cuatro fenotipos: O, A, B, y AB. También se han identificado subgrupos de A y B.

Grupo Directo			Grupo Inverso				ABO Fenotipo	Caucasianos %
A	B	A,B	A ₁	A ₂	B	O		
+	0	+	0	0	+	0	A	42
0	+	+	+	+	0	0	B	10
0	0	0	+	+	+	0	O	44
+	+	+	0	0	0	0	AB	4

REACTIVOS

Los reactivos Spinreact ABO IgM Monoclonales para grupaje sanguíneo contienen anticuerpos monoclonales de ratón diluidos en tampón fosfato, que contiene cloruro sódico, EDTA y albúmina bovina. Cada reactivo se suministra en la dilución óptima para su utilización en todas las técnicas aquí recomendadas sin necesidad de diluciones o adiciones suplementarias. El lote y la caducidad vienen detallados en la etiqueta del vial.

Producto	Línea Celular/Clon	Color	Colorante
Anti-A	9113D10	Azul	Azul patentado
Anti-B	9621A8	Amarillo	Tartracina
Anti-A,B	152D12 + 9113D10	Incoloro	Ninguno

PRECAUCIONES

- Los reactivos son sólo para uso en diagnóstico *in vitro*.
- Si el vial del reactivo está roto o agrietado, descartar inmediatamente su contenido.
- No utilizar reactivos caducados. (ver la etiqueta de vial).
- No utilizar reactivos que presenten precipitados.
- Deben manipularse los reactivos con la indumentaria apropiada de protección, tales como guantes desechables y bata de laboratorio.
- Los reactivos han sido filtrados a través de cápsulas de 0.2 µm para reducir la carga biológica. Una vez abierto el vial, el contenido debe permanecer viable hasta la fecha de caducidad, siempre y cuando no haya una marcada turbidez la cual podría ser indicativa de deterioración o contaminación del reactivo.
- Los reactivos contienen < 0.1% de azida sódica. La azida sódica puede ser tóxica, si se ingiere y puede reaccionar con cobre o plomo de las tuberías y formar componentes explosivos. En caso de eliminación del producto, hacerlo con abundante agua del grifo.
- Ningún método puede garantizar que los productos derivados de fuentes humanas o animales están libres de enfermedades infecciosas. Manipular y desechar con precaución los viales y su contenido.
- Para mayor información sobre la eliminación del producto o descontaminación en caso de derrame, ver las fichas de seguridad.

NOTAS

- Se recomienda la utilización de un control positivo y un control negativo para testar de forma paralela en cada tanda de tests. Los tests deben considerarse inválidos si los controles no muestran los resultados esperados.
- Durante el tipaje de hemáticas de un paciente, es importante incluir un control negativo, debido a que los potenciadores macromoleculares del reactivo pueden provocar falsas reacciones positivas con las células recubiertas de IgG.
- Las muestras sanguíneas de de los subgrupos A y B débiles (ej. Ax) pueden dar lugar a falsos negativos o bien reacciones débiles si se usan procedimientos en placas de gel, placas microtitulo y porta. Por ello, se recomienda testarlos de nuevo utilizando la técnica en tubo.
- Antes de que el grupo sanguíneo ABO de individuos mayores de 6 meses pueda ser confirmado, los resultados deberían estar confirmados mediante testado de su suero o plasma frente a células de grupos A₁ y B conocidas.
- En las técnicas aquí recomendadas un volumen equivale aproximadamente a 40 µl cuando se utiliza el gotero suministrado.
- La utilización de los reactivos y la interpretación de los resultados debe llevarse a cabo por personal cualificado y entrenado de acuerdo a las normativas vigentes en cada país.
- El usuario debe determinar la idoneidad del reactivo para su uso en otras técnicas.

CONSERVACIÓN

No congelar. Los viales de reactivo deben ser conservados a 2-8°C. Almacenamientos prolongados, a temperaturas fuera de este rango, pueden acelerar la pérdida de reactividad.

MATERIAL NECESARIO

- Tubos de vidrio (10 x 75 mm o 12 x 75 mm).
- Centrífuga de tubos.
- Pipetas volumétricas.
- Portaobjetos de vidrio para el microscopio.
- Stik aplicador.
- Tampón fosfato salino (PBS): NaCl 0.9%, pH 7.0 ± 0.2 a 22°C ± 1°C.
- Hemáticas control Positivos (idealmente A₂B) y negativos (grupo O).
- Placas - DiaMed ID (Neutra).
- Centrífuga DiaMed ID.
- Diluyente DiaMed ID.
- Agitadores de placas.
- Lector automático de placas.
- Microplacas de pocillos "U" validadas.
- Centrífuga de microplacas.

MUESTRAS

Para el tipado de antígenos debe utilizarse muestras de sangre recogidas con o sin anticoagulante. Si el test no se realiza de inmediato, conservar las muestras a 2-8°C. Las muestras con EDTA o citrato deben ser analizadas en 48 horas. Las muestras recogidas en ACD, CPD o CPDA-1 pueden ser utilizadas hasta 35 días desde su retirada. Todas las muestras de sangre deben ser lavadas con PBS al menos dos veces antes de realizar el test. Todas las muestras de sangre que muestren evidencias de lisis pueden dar lugar a resultados no fiables.

PROCEDIMIENTO

A. Método en Tubo

- Preparar una suspensión de hemáticas a testar lavados al 2-3% en PBS.
- Añadir en un tubo identificado: 1 volumen de reactivo Anti-ABO y 1 volumen de la suspensión de hemáticas.
- Mezclar minuciosamente e incubar a temperatura ambiente durante 1 minuto.
- Centrifugar los tubos durante 10 segundos a 1000 rcf (g) o a una fuerza y tiempo alternativos adecuados.
- Resuspender cuidadosamente el botón celular y leer macroscópicamente por aglutinación.
- Cualquier tubo que muestre un resultado negativo o cuestionable, debe ser incubado durante 15 minutos a temperatura ambiente.
- Tras la incubación, repetir los pasos 4 y 5.

B. Método en Porta

- Preparar una suspensión de hemáticas a testar al 35-45% en suero, plasma o PBS.
- Depositar en un porta identificado: 1 volumen del reactivo Anti-ABO y 1 volumen de la suspensión de hemáticas.

- Utilizando un stik aplicador limpio, mezclar el reactivo y las células en una área de unos 20 x 40 mm.
- Inclinar lentamente el portaobjetos de atrás a delante durante 30 segundos, ocasionalmente con un periodo adicional de mezcla de 2 minutos, manteniendo el porta a temperatura ambiente.
- Leer macroscópicamente tras 2 minutos sobre una luz difusa y no confundir las fibras de fibrina con la aglutinación.
- Cualquier reacción débil debe ser repetida con la técnica en tubo.

C. Técnica de Micro tipado DiaMed-ID

- Preparar una suspensión del 0.8% de hemáticas a testar lavados en Diluyente ID.
- Preparar hojas de aluminio para tantos microtubos como sean necesarios.
- Depositar en el microtubo apropiado: 50µl de suspensión de hemáticas y 25 µl de reactivo Anti-ABO.
- Centrifugar las targetas ID-Card(s) durante 10 minutos a 90 rcf (g) o a una fuerza y tiempo alternativos adecuados.
- Leer macroscópicamente por aglutinación.

D. Técnica de Microplaca, usando pocillos "U"

- Preparar una suspensión de hemáticas a testar lavados al 2-3% en PBS.
- Depositar en el pocillo apropiado: 1 volumen de reactivo Anti-ABO y 1 volumen de suspensión de hemáticas.
- Mezclar minuciosamente, preferiblemente usando un agitador de microplacas, cuidando de evitar cualquier contaminación cruzada.
- Incubar a temperatura ambiente durante 15 minutos (tiempo en función del usuario).
- Centrifugar la microplaca durante 1 minuto a 140 rcf o a una fuerza y tiempo alternativos adecuados.
- Resuspender el botón celular mediante una agitación cuidadosamente controlada en un agitador de microplacas.
- Leer macroscópicamente o con un lector automático validado.
- Cualquier reacción débil debe ser repetida con la técnica en tubo.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

- Positivo:** La aglutinación constituye un resultado positivo y dentro de las limitaciones aceptadas para el procedimiento de la técnica, indica la presencia apropiada de antígeno ABO en los hemáticos.
- Negativo:** La ausencia de aglutinación de hemáticas constituye un resultado negativo y dentro de las limitaciones aceptadas para el procedimiento de la técnica, indica la ausencia del antígeno apropiado ABO en los hemáticos.
- Discrepancias:** Si no existe correlación entre los resultados obtenidos con el grupo directo y el grupo inverso, es preciso realizar más pruebas.
- Los resultados de células que aglutinen con el control negativo deben excluirse, puesto que la aglutinación es probablemente causada por el efecto de los potenciadores macromoleculares del reactivo en células sensibilizadas.

Estabilidad de las reacciones

- Leer los tests realizados en microplacas y tubos directamente tras la centrifugación.
- Los tests en porta deben ser interpretados en 2 minutos a fin de asegurar la especificidad y evitar la posibilidad de que un resultado negativo sea incorrectamente interpretado como positivo debido al secado del reactivo.
- Los resultados, de tests realizados a temperaturas distintas de las aquí recomendadas, deben ser interpretados con cautela.

LIMITACIONES

- Los antígenos ABO no están totalmente desarrollados en el nacimiento, por lo que pueden darse reacciones más débiles con muestras de neonatos y de cordón umbilical.
- Al utilizar el reactivo monoclonal anti A, B, las muestras de los subgrupos A o B débiles (ej. Ax) pueden dar lugar a falsos negativos o reacciones débiles cuando se analizan mediante porta, microplacas o gel. Se recomienda pues re-testar las muestras de subgrupos débiles mediante la técnica en tubo.
- Los reactivos de Spinreact monoclonales Anti A y Anti B no están validados para detectar los antígenos Ax, A₃, Bx, ni B₃ respectivamente. En consecuencia, no debe exigirse reactividad al reactivo monoclonal Anti A, Anti B frentes estos subgrupos débiles.
- Muestras conservadas pueden dar reacciones más débiles que no muestras frescas.
- También pueden darse falsos resultados positivos o negativos debido a:
 - Contaminación de los materiales del test
 - Conservación inadecuada, concentración celular, tiempo o temperatura de incubación
 - Centrifugación inapropiada o excesiva
 - Desviación de las técnicas recomendadas
 - Muestras de cordón umbilical contaminadas con gelatina de Wharton.
- El usuario es responsable del funcionamiento de los reactivos en cualquier otro método distinto de los aquí mencionados.
- Cualquier desviación de las técnicas aquí recomendadas debería ser validada antes de su utilización⁹.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

- Los reactivos han sido caracterizados para todos los procedimientos aquí detallados.
- Previamente a su liberación, cada lote de Spinreact Anti-A, Anti-B y Anti-AB monoclonal es testado a través de las técnicas aquí recomendadas frente a un panel de hemáticas antígenos-positivo, a fin de asegurar la adecuada reactividad.
- La especificidad en origen de los anticuerpos monoclonales está demostrada frente a un panel de hemáticas antígenos-negativo.
- Los reactivos Anti-B de Spinreact no reaccionan frente a hemáticas "B Adquiridos".
- Los reactivos monoclonales ABO de Spinreact no detectan antígenos cripticos T, Tn o Cad.
- La potencia de los reactivos ha sido testada frente a los siguientes estándares de referencia de potencia mínima, obtenidos del *National Institute of Biological Standards and Controls (NIBSC)*:
 - Anti A standard de referencia 88/722 y / o
 - Anti B standard de referencia 88/724
- El Control de Calidad de los reactivos se llevó a cabo utilizando hemáticas lavados dos veces en PBS, previa utilización.
- Los reactivos cumplen las recomendaciones de la última versión de las Guías para los Servicios de transfusión de sangre del Reino Unido.

BIBLIOGRAFÍA

- Kholer G, Milstein C. Continuous culture of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975, 256, 495-497.
- Race RR, Sanger R. *Blood Groups in Man* 6th Edition, Oxford, Blackwell Scientific Publishers 1975, Chapter 10.
- Issitt PD. *Applied Blood Group Serology*, 3rd Edition, Montgomery Scientific, Miami, 1985, Chapter 10.
- Mollison PL. *Blood Transfusion in Clinical Medicine*, 8th Edition, Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1987, Chapter 7.
- Tippett P. Sub-divisions of the Rh(D) antigen. *Medical Laboratory Science* 1988; 45, 88-93
- Thompson KM, Hughes-Jones NC. Production and characteristics of monoclonal anti-Rh. *Bailliere's Clinical Haematology* 1990; April
- Jones J, Scott ML, Voak D. Monoclonal anti-D specificity and Rh D structure: criteria for selection of monoclonal anti-D reagents for routine typing of patients and donors. *Transfusion Medicine* 1995, 5, 171-184
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. H.M.S.O. Current Edition.
- 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.

PRESENTACIÓN

Monoclonal Anti-A	Ref: 1700002	10 ml
Monoclonal Anti-B	Ref: 1700004	10 ml
Monoclonal Anti-A+ B	Ref: 1700006	10 ml





Anti-A, Anti-B, Anti-A+ B MONOCLONAL

Tube, Slide, Diamed-ID and Microplate tests Blood grouping

Qualitative test for determination of A and/or B antigens on human red blood cells. IVD

Store at 2-8°C

PRINCIPLE

The reagents will cause direct agglutination (clumping) of test red cells that carry the corresponding ABO antigen. No agglutination generally indicates the absence of the corresponding ABO antigen (see Limitations).

CLINICAL SIGNIFICANCE

In 1900, Landsteiner discovered the serum of some people would agglutinate the red cells of others. Four common phenotypes are now recognised: O, A, B and AB. Subgroups of A and B have since been identified.

Forward Group			Reverse Group			ABO Phenotype	Caucasians %	
A	B	A,B	A ₁	A ₂	B			O
+	0	+	0	0	+	0	A	42
0	+	+	+	+	0	0	B	10
0	0	0	+	+	+	0	O	44
+	+	+	0	0	0	0	AB	4

REAGENTS

Spinreact Monoclonal IgM ABO blood grouping reagents contain mouse monoclonal antibodies diluted in a phosphate buffer containing sodium chloride, EDTA and bovine albumin. Each reagent is supplied at optimal dilution for use with all the recommended techniques stated below without the need for further dilution or addition. For lot reference number and expiry date see **Vial Label**.

Product	Cell Line/Clone	Colour	Dye Used
Anti-A	9113D10	Blue	Patent Blue
Anti-B	9621A8	Yellow	Tartrazine
Anti-A,B	152D12 + 9113D10	Colourless	None

PRECAUTIONS

- The reagents are intended for *in vitro* diagnostic use only.
- If a reagent vial is cracked or leaking, discard the contents immediately.
- Do not use the reagents past the expiration date (see **Vial Label**).
- Do not use the reagents if a precipitate is present.
- Protective clothing should be worn when handling the reagents, such as disposable gloves and a laboratory coat.
- The reagents have been filtered through a 0.2 µm capsule to reduce the bio-burden. Once a vial has been opened the contents should remain viable up until the expiry date as long as there is no marked turbidity, which can indicate reagent deterioration or contamination.
- The reagents contain < 0.1% sodium azide. Sodium azide may be toxic if ingested and may react with lead and copper plumbing to form explosive metal azides. On disposal flush away with large volumes of water.
- No known tests can guarantee that products derived from human or animal sources are free from infectious agents. Care must be taken in the use and disposal of each vial and its contents.
- For information on disposal of the reagent and decontamination of a spillage site see **Material Safety Data Sheets**, available on request.

NOTES

- It is recommended a positive control and a negative control be tested in parallel with each batch of tests. Tests must be considered invalid if controls do not show expected results.
- When typing red cells from a patient it is important that a reagent negative control is included since the macromolecular potentiators in the reagent may cause false positive reactions with IgG coated cells.
- Blood specimens of weak A or B subgroups (e.g Ax) may give rise to false negative or weak reactions when tested using slides, microtitre plates or gel cards. It is advisable to re-test weak subgroups using the tube technique.
- Individuals older than six months should have their ABO blood-grouping results confirmed by testing their serum or plasma against known group A₁ and B cells before their ABO blood group can be confirmed.
- In the procedures here detailed one volume is approximately 40µl when using the vial dropper provided.
- The use of the reagents and the interpretation of results must be carried out by properly trained and qualified personnel in accordance with the requirements of the country where the reagents are in use.
- The user must determine the suitability of the reagents for use in other techniques.

STORAGE

Do not freeze. Reagent vials should be stored at 2 - 8°C on receipt. Prolonged storage at temperatures outside this range may result in accelerated loss of reagent reactivity.

REAGENTS AND MATERIALS REQUIRED

- Glass test tubes (10 x 75 mm or 12 x 75 mm).
- Test tube centrifuge.
- Volumetric pipettes.
- Glass microscope slides.
- Applicator sticks.
- Phosphate Buffered Saline (PBS): NaCl 0.9%, pH 7.0 ± 0.2 at 22°C ± 1°C.
- Positive (ideally group A₂B) and negative (group O) control red cells.
- DiaMed ID-Cards (Neutral).
- DiaMed ID-Centrifuge.
- DiaMed ID-Diluent: e.g. ID-CellStab.
- Plate shaker.
- Automatic plate reader.
- Validated "U" well microplates.
- Microplate centrifuge.

SAMPLE

Blood samples drawn with or without anticoagulant may be used for antigen typing. If testing is delayed then store specimens at 2-8°C. EDTA and citrate samples should be typed within 48 hours. Samples collected into ACD, CPD or CPDA-1 may be tested up to 35 days from the date of withdrawal. All blood samples should be washed at least twice with PBS before being tested. Blood samples showing evidence of lysis may give unreliable results.

PROCEDURE

A. Tube Technique

- Prepare a 2-3% suspension of washed test red cells in PBS.
- Place in a labelled test tube: 1 volume of Anti-ABO reagent and 1 volume of test red cell suspension.
- Mix thoroughly and incubate at room temperature for 1 minute.
- Centrifuge all tubes for 10 seconds at 1000 rcf or for a suitable alternative time and force.
- Gently resuspend red cell button and read macroscopically for agglutination.
- Any tubes, which show a negative or questionable result, should be incubated for 15 minutes at room temperature.
- Following incubation, repeat steps 4 and 5.

B. Slide Technique

- Prepare a 35-45% suspension of test red cells in serum, plasma or PBS.
- Place on a labelled glass slide: 1 volume of Anti-ABO reagent and 1 volume of test red cell suspension.
- Using a clean applicator stick, mix reagent and cells over an area of about 20 x 40 mm.
- Slowly tilt the slide back and forth for 30 seconds, with occasional further mixing during the 2-minute period, maintaining slide at room temperature.
- Read macroscopically after 2 minutes over a diffuse light and do not mistake fibrin strands as agglutination.
- Any weak reactions should be repeated by the tube technique.

C. DiaMed-ID Micro Typing Technique

- Prepare a 0.8% suspension of washed test red cells in an ID-Diluent.
- Remove aluminium foil from as many microtubes as needed.
- Place in appropriate microtube: 50µl of test red cell suspension and 25µl of Anti-ABO reagent.
- Centrifuge the ID-Card(s) for 10 minutes at 90 rcf or for a suitable alternative time and force.
- Read macroscopically for agglutination.

D. Microplate Technique, using "U" wells

- Prepare a 2-3% suspension of washed test red cells in PBS.
- Place in the appropriate well: 1 volume Anti-ABO reagent and 1 volume test red cell suspension.
- Mix thoroughly, preferably using a microplate shaker, taking care to avoid cross-well contamination.
- Incubate at room temperature for 15 minutes (time dependant on user).
- Centrifuge the microplate for 1 minute at 140 rcf or for a suitable alternative time and force.
- Resuspend the cell buttons using carefully controlled agitation on a microplate shaker.
- Read macroscopically or with a validated automatic reader.
- Any weak reactions should be repeated by the tube technique.

INTERPRETATION OF TEST RESULTS

- Positive:** Agglutination of the test red cells constitutes a positive test result and within accepted limitations of test procedure, indicates the presence of the appropriate ABO antigen on the test red cells.
- Negative:** No agglutination of the test red cells constitutes a negative result and within the accepted limitations of the test procedure, indicates the absence of the appropriate ABO antigen on the test red cells.
- Discrepancies:** If the results obtained with reverse group don't correlate with forward group, further investigation is required.
- Test results of cells that are agglutinated using the reagent negative control shall be excluded, as the agglutination is most probably caused by the effect of the macromolecular potentiators in the reagent on sensitised cells.

Stability of the reactions

- Read all tube and microplate tests straight after centrifugation.
- Slide tests should be interpreted within two minutes to ensure specificity and to avoid the possibility a negative result may be incorrectly interpreted as positive due to drying of the reagent.
- Caution should be exercised in the interpretation of results of tests performed at temperatures other than those recommended.

LIMITATIONS

- ABO antigens are not fully developed at birth and so weaker reactions may therefore occur with cord or neonatal specimens.
- When using Monoclonal Anti-A,B, blood specimens of weak A or B subgroups (e.g Ax) may give rise to false negative or weak reactions when tested using slides, microtitre plates or gel cards. It is advisable to re-test weak subgroups using the tube technique.
- Spinreact monoclonal Anti-A and monoclonal Anti-B are not validated to detect Ax and A3 or Bx and B3 antigens resp and we therefore do not claim reactivity of the monoclonal Anti-A or Anti-B reagent against these weak A and B sub-groups.
- Stored blood may give weaker reactions than fresh blood.
- False positive or false negative results may also occur due to:
 - Contamination of test materials
 - Improper storage, cell concentration, incubation time or temperature
 - Improper or excessive centrifugation
 - Deviation from the recommended techniques.
 - Cord samples contaminated with Wharton's jelly
- The user is responsible for the performance of the reagents by any method other than those here mentioned.
- Any deviations from the techniques here recommended should be validated prior to use⁹.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

- The reagents have been characterised by all the procedures here mentioned.
- Prior to release, each lot of Spinreact Monoclonal Anti-A, Anti-B and Anti-A,B is tested by the techniques here recommended against a panel of antigen-positive red cells to ensure suitable reactivity.
- Specificity of source monoclonal antibodies is demonstrated using a panel of antigen-negative cells.
- Spinreact Anti-B does not react with "Acquired-B" red cells.
- Spinreact Monoclonal ABO reagents do not detect crypt antigens such as T, Tn or Cad.
- The potency of the reagents has been tested against the following minimum potency reference standards obtained from National Institute of Biological Standards and Controls (NIBSC):
 - Anti-A reference standard 88/722 And / Or
 - Anti-B reference standard 88/724
- The Quality Control of the reagents was performed using red cells that had been washed twice with PBS prior to use.
- The reagents comply with the recommendations contained in the latest issue of the Guidelines for the UK Blood Transfusion Services.

BIBLIOGRAPHY

- Kholer G, Milstein C. Continuous culture of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975; 256, 495-497
- Messeter L et al. Mouse monoclonal antibodies with Anti-A, Anti-B and Anti-A,B specificities, some superior to human polyclonal ABO reagents. *Vox Sang* 1984; 46, 185-194
- Race RR, Sanger R. *Blood Groups in Man*, 6th Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1975; Chapter 2.
- Mollison PL. *Blood Transfusion in Clinical Medicine*, 8th Edition, Blackwell Scientific, Oxford 1987; Chapter 6.
- Issitt PD. *Applied Blood Group Serology*, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6
- BSCB Blood Transfusion Task Force. *Guidelines for microplate techniques in liquid-phase blood grouping and antibody screening*. *Clinical Laboratory Haematology* 1990; 12, 437-460.
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom*. H.M.S.O. Current Edition.
- 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.

PACKAGING

Monoclonal Anti-A	Ref: 1700002	10 ml
Monoclonal Anti-B	Ref: 1700004	10 ml
Monoclonal Anti-A+ B	Ref: 1700006	10 ml



Détermination qualitative d'antigène A et/ou B dans les hématies humaines IVD

A conserver à 2-8°C.

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Le réactif provoquera une agglutination directe des hématies qui portent l'antigène ABO correspondant. La non agglutination est généralement le signe de l'absence d'antigènes ABO (voir Limitations).

SIGNIFICATION CLINIQUE

En 1900, Landsteiner a découvert que le sérum de certaines personnes pouvait agglutiner les hématies d'autres personnes. De nos jours, quatre phénotypes sont reconnus : O, A, B, et AB. Des sous-groupes de A et B ont également été identifiés.

Groupe Direct			Groupe Inverse				ABO Phénotype	Caucasiens %
A	B	A,B	A ₁	A ₂	B	O		
+	0	+	0	0	+	0	A	42
0	+	+	+	+	0	0	B	10
0	0	0	+	+	+	0	O	44
+	+	+	0	0	0	0	AB	4

RÉACTIFS

Les réactifs Spinreact ABO IgM Monoclonaux pour groupage sanguin contiennent des anticorps monoclonaux de souris dilués dans du tampon phosphate qui contient du chlorure de sodium, de l'EDTA et de l'albumine bovine. Chaque réactif est fourni dans la dilution maximale afin qu'il puisse être utilisé avec toutes les techniques que nous recommandons, sans besoin de dilutions ni d'additions supplémentaires. Le lot et la date de péremption sont inscrits sur l'étiquette du flacon.

Produit	Lignée Cellulaire/Clone	Couleur	Colorant
Anti-A	9113D10	Bleu	Bleu breveté
Anti-B	9621A8	Jaune	Tartrazine
Anti-A,B	152D12 + 9113D10	Incolore	Aucun

PRÉCAUTIONS

- Les réactifs sont uniquement destinés à un usage diagnostique *in vitro*.
- Si le flacon du réactif est cassé ou fêlé, jeter immédiatement son contenu.
- Ne pas utiliser de réactifs périmés. (voir l'étiquette du flacon).
- Ne pas utiliser de réactifs qui présentent des précipités.
- Les réactifs doivent être manipulés avec un vêtement de protection approprié : gants jetables et blouse de laboratoire.
- Les réactifs ont été filtrés à travers des capsules de 0,2 µm pour réduire leur charge biologique. Une fois que le flacon est ouvert, le contenu restera viable jusqu'à la date de péremption à condition qu'aucune turbidité marquée n'apparaisse, celle-ci pouvant indiquer la détérioration ou contamination du réactif.
- Les réactifs contiennent < 0,1 % d'azide de sodium. L'azide de sodium peut être toxique, en cas d'ingestion et peut réagir avec le cuivre ou le plomb des tuyauteries et former des composés explosifs. En cas d'élimination du produit, laisser couler longtemps l'eau du robinet.
- Aucune méthode ne peut garantir que les produits provenant de sources humaines ou animales sont exempts de maladies infectieuses. Manipuler et jeter avec précaution les flacons et leur contenu.
- Pour de plus amples informations sur l'élimination du produit ou la décontamination en cas de déversement, consulter les fiches de sécurité.

NOTES

- Il est conseillé d'utiliser un contrôle positif et un contrôle négatif pour tester parallèlement chaque série d'essais. Les essais doivent être considérés comme non valables si les contrôles ne présentent pas les résultats attendus.
- Pendant le typage des hématies d'un patient, il est important d'inclure un contrôle négatif vu que les améliorateurs macromoléculaires du réactif peuvent provoquer de fausses réactions positives avec les cellules recouvertes d'IgG.
- Les échantillons sanguins des sous-groupes A et B faibles (ex. : Ax) peuvent donner lieu à de faux négatifs ou bien à des réactions faibles si on utilise des processus sur des plaques en gel, plaques de microtirage et lame. C'est pourquoi il est recommandé de les tester à nouveau en recourant à la technique du tube.
- Avant de confirmer le groupe sanguin ABO d'individus âgés de plus de 6 mois, il faudra confirmer les résultats en testant leur sérum ou plasma par rapport aux cellules des groupes A₁ et B connues.
- Dans les techniques que nous recommandons, un volume équivalent environ à 40 µl quand on utilise le compte-gouttes fourni.
- L'utilisation des réactifs et l'interprétation des résultats doivent être réalisées par un personnel qualifié et formé en accord avec les réglementations en vigueur de chaque pays.
- L'utilisateur doit déterminer si le réactif convient pour une utilisation avec d'autres techniques.

CONSERVATION

Ne pas congeler. Les flacons de réactif doivent être conservés à 2-8°C. Des stockages prolongés à des températures non comprises dans cette plage peuvent accélérer la perte de réactivité.

MATÉRIEL NÉCESSAIRE

- Tubes en verre (10 x 75 mm ou 12 x 75 mm).
- Centrifugeuse de tubes.
- Pipettes volumétriques.
- Lames porte-objets en verre pour le microscope.
- Stick applicateur.
- Tampon phosphate salin (PBS) : NaCl 0,9%, pH 7,0 ± 0,2 à 22°C ± 1°C.
- Hématies de contrôle positives (idéalement A₂B) et négatives (groupe O).
- Plaques - *Diamed ID* (Neutre).
- Centrifugeuse *Diamed ID*.
- Diluant *Diamed ID*.
- Agitateurs de plaques.
- Lecteur automatique de plaques.
- Microplaques à puits fond « U » validées.
- Centrifugeuse de microplaques.

ÉCHANTILLONS

Pour le typage d'antigènes, il faut utiliser des échantillons de sang prélevés avec ou sans anticoagulant. Si l'essai n'est pas réalisé dans l'immédiat, conserver les échantillons à 2-8°C. Les échantillons avec de l'EDTA ou du citrate doivent être analysés dans les 48 heures. Les échantillons prélevés dans de l'ACD, CPD ou CPDA-1 peuvent être utilisés pendant 35 jours maximum, à partir de la date de leur prélèvement. Tous les échantillons de sang doivent être lavés avec du PBS au moins deux fois, avant de réaliser l'essai. Tous les échantillons de sang avec des évidences de lyse peuvent donner des résultats non fiables.

PROCÉDURE

A. Méthode en Tube

- Préparer une suspension d'hématies lavées à 2-3 % dans du PBS pour l'essai.
- Mettre dans un tube identifié : 1 volume de réactif Anti-ABO et 1 volume de la suspension d'hématies.
- Mélanger minutieusement et incubé à température ambiante pendant 1 minute.
- Centrifuger les tubes pendant 10 secondes à 1000 rcf (g) ou à une force et un temps alternatifs adaptés.
- Remettre en suspension soigneusement le bouton cellulaire, puis lire de manière macroscopique par agglutination.
- Tout tube qui présente un résultat négatif ou contestable doit être incubé pendant 15 minutes à température ambiante.
- Après l'incubation, répéter les étapes 4 et 5.

B. Méthode sur lame

- Préparer une suspension d'hématies à 35-45 % dans du sérum, plasma ou PBS, pour l'essai.

- Déposer sur une lame identifiée : 1 volume de réactif Anti-ABO et 1 volume de la suspension d'hématies.
- En utilisant un *stick* applicateur propre, mélanger le réactif et les cellules sur une zone de 20 X 40 mm.
- Pencher lentement la lame porte-objets de l'arrière vers l'avant pendant 30 secondes ; à certaines occasions, mélanger pendant 2 minutes supplémentaires, en maintenant la lame à température ambiante.
- Lire de manière macroscopique 2 minutes après, contre une lumière diffuse et ne pas confondre les fibres de fibrine avec l'agglutination.
- Toute réaction doit être répétée avec la technique du tube.

C. Technique de Micro-typage DiaMed-ID

- Préparer une suspension de 0,8% d'hématies lavées dans du diluant ID, pour l'essai.
- Préparer des feuilles d'aluminium pour autant de microtubes que nécessaire.
- Déposer dans le microtube approprié : 50µl de suspension d'hématies et 25 µl de réactif Anti-ABO.
- Centrifuger les cartes *ID-Card(s)* pendant 10 minutes à 90 rcf (g) ou à une force et un temps alternatifs adaptés.
- Lire de manière macroscopique par agglutination.

D. Technique de Microplaque, avec utilisation de puits fond « U »

- Préparer une suspension d'hématies lavées à 2-3 % dans du PBS, pour l'essai.
- Déposer dans le puits approprié : 1 volume de réactif Anti-ABO et 1 volume de la suspension d'hématies.
- Mélanger minutieusement, de préférence en utilisant un agitateur de microplaques, en prenant soin d'éviter toute contamination croisée.
- Incuber à température ambiante pendant 15 minutes (temps en fonction de l'utilisateur).
- Centrifuger la microplaque pendant 1 minute à 140 rcf (g) ou à une force et un temps alternatifs adaptés.
- Remettre en suspension le bouton cellulaire avec une agitation dûment contrôlée dans un agitateur de microplaques.
- Lire de manière macroscopique ou avec un lecteur automatique valide.
- Toute réaction doit être répétée avec la technique du tube.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

- Positif** : L'agglutination constitue un résultat positif : dans les limites acceptées pour la mise en œuvre de la technique, elle signale la présence appropriée d'antigène ABO dans les hématies.
- Négatif** : L'absence d'agglutination d'hématies constitue un résultat négatif : dans les limites acceptées pour la mise en œuvre de la technique, elle signale l'absence de l'antigène approprié ABO dans les hématies.
- Discordances** : S'il n'existe pas de corrélation entre les résultats obtenus avec le groupe direct et le groupe inverse, il faudra réaliser plus d'essais.
- Les résultats de cellules qui s'agglutinent avec le contrôle négatif doivent être exclus, vu que l'agglutination est probablement causée par l'effet des améliorateurs macromoléculaires du réactif sur les cellules sensibilisées.

Stabilité des réactions

- Lire les essais réalisés sur microplaques et tubes immédiatement après la centrifugation.
- Les essais sur lame doivent être interprétés dans un intervalle de 2 minutes afin de garantir leur spécificité et d'éviter la possibilité qu'un résultat négatif soit interprété à tort comme positif, en raison du dessèchement du réactif.
- Les résultats des essais réalisés à des températures distinctes de celles recommandées doivent être interprétés avec précaution.

LIMITATIONS

- Les antigènes ABO ne sont pas totalement développés à la naissance aussi peut-il se produire des réactions plus faibles avec des échantillons de nouveau nés et de cordon ombilical.
- Lorsque l'on utilise le réactif monoclonal anti A, B, les échantillons des sous-groupes A ou B faibles (ex. : Ax) peuvent donner lieu à de faux négatifs ou à des réactions faibles quand ils sont analysés au moyen d'une lame, de microplaques ou gel. Il est donc recommandé de tester à nouveau les échantillons de sous-groupes faibles avec la technique du tube.
- Les réactifs de Spinreact monoclonaux Anti A et Anti B ne sont pas valables pour détecter les antigènes Ax, A₃, Bx ni B₃. Par conséquent, il ne faut pas exiger de réactivité au réactif monoclonal Anti A, Anti B par rapport à ces sous-groupes faibles.
- Des échantillons conservés peuvent donner des réactions plus faibles que des échantillons non frais.
- Il peut également se produire de faux résultats positifs ou négatifs en raison de :
 - La contamination des matériaux de l'essai
 - La conservation inadéquate, la concentration cellulaire, le temps ou la température d'incubation.
 - La centrifugation inappropriée ou excessive
 - Un écart par rapport aux techniques recommandées
 - Des échantillons de cordon ombilical contaminés avec de la gélatine de Wharton.
- L'utilisateur est responsable du fonctionnement des réactifs s'il recourt à toute autre méthode distincte de celles susmentionnées.
- Tout écart par rapport aux techniques ici recommandées doit être validé avant utilisation⁹.

CARACTÉRISTIQUES DE LA METHODE

- Les réactifs ont été définis pour toutes les mises en œuvre que nous avons détaillées.
- Avant leur mise sur le marché, chaque lot de Spinreact Anti-A, Anti-B et Anti-AB monoclonal est testé par le biais des techniques que nous avons recommandées, et avec un panel d'hématies antigènes-positif, afin de garantir la réactivité adaptée.
- La spécificité à l'origine des anticorps monoclonaux est prouvée par rapport à un panel d'hématies antigènes-négatif.
- Les réactifs Anti-B de Spinreact ne réagissent pas en présence d'hématies « B Acquisées ».
- Les réactifs monoclonaux ABO de Spinreact ne détectent pas d'antigènes cryptiques T, Tn ou Cad.
- La puissance des réactifs a été testée au regard des standards de référence de puissance minimale qui suivent, ceux-ci ayant été obtenus auprès du *National Institute of Biological Standards and Controls (NIBSC)* :
 - Anti A standard, référence 88/722 et I ou
 - Anti B standard, avec référence 88/724
- Le Contrôle de Qualité des réactifs a été réalisé en employant des hématies lavées deux fois dans du PBS, avant utilisation.
- Les réactifs satisfont aux recommandations de la dernière version des Guides pour les Services de transfusion de sang du Royaume-Uni.

BIBLIOGRAPHIE

- Kholer G, Milstein C. Continuous culture of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975, 256, 495-497.
- Race RR, Sanger R. *Blood Groups in Man* 6th Edition, Oxford, Blackwell Scientific Publishers 1975, Chapter 2.
- Issitt PD. *Applied Blood Group Serology*, 3rd Edition, Montgomery Scientific, Miami, 1985, Chapter 10.
- Mollison PL. *Blood Transfusion in Clinical Medicine*, 8th Edition, Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1987, Chapter 7.
- Tippett P. *Sub-divisions of the Rh (D) antigen*. *Medical Laboratory Science* 1988; 45, 88-93
- Thompson KM, Hughes-Jones NC. *Production and characteristics of monoclonal anti-Rh*. *Bailliere's Clinical Haematology* 1990; April
- Jones J, Scott ML, Voak D. *Monoclonal anti-D specificity and Rh D structure: criteria for selection of monoclonal anti-D reagents for routine typing of patients and donors*. *Transfusion Medicine* 1995, 5, 171-184
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. H.M.S.O. Current Edition.
- 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.

PRÉSENTATION

Monoclonal Anti-A	Réf. : 1700002	10 mL
Monoclonal Anti-B	Réf. : 1700004	10 mL
Monoclonal Anti-A+ B	Réf. : 1700006	10 mL

Determinação qualitativa de antígeno A e/ou B em células vermelhas IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCÍPIO DO MÉTODO

Os reagentes causam aglutinação direta das células vermelhas teste, que carregam o antígeno ABO correspondente. A ausência de aglutinação geralmente indica a ausência dos antígenos ABO correspondentes (ver limitações).

SIGNIFICADO CLÍNICO

Em 1900 Landsteiner descobriu que o soro de algumas pessoas poderia aglutinar as células vermelhas de outras. Quatro fenótipos comuns são reconhecidos atualmente: O, A, B e AB. Subgrupos de A e B foram então identificados.

Grupo			Grupo Reverso				Fenotipo ABO	Caucasianos %
A	B	A,B	A ₁	A ₂	B	O		
+	0	+	0	0	+	0	A	42
0	+	+	+	+	0	0	B	10
0	0	0	+	+	+	0	O	44
+	+	+	0	0	0	0	AB	4

REAGENTES

Os reagentes de grupo sanguíneo IgM monoclonal ABO Spinreact contém anticorpos monoclonais de camundongo diluídos em um tampão fosfato contendo cloreto de sódio, EDTA e albumina bovina. Cada reagente é fornecido em uma diluição ótima para ser usado com todas as técnicas recomendadas, sem a necessidade de diluição ou adição posterior. O número de referência do lote e data de vencimento estão impressos nas etiquetas individuais dos frascos.

Produto	Linha celular/clone	Cor	Corante usado
Anti-A	9113D10	Azul	Azul patenteado
Anti-B	9621A8	Amarelo	Tartrazina
Anti-A,B	9113D10 + 152D12	Incolor	Nenhum

PRECAUÇÕES

- O reagente é somente para uso em diagnóstico *in vitro*.
- Se o frasco estiver rachado ou vazando, descartar o conteúdo imediatamente.
- Não utilizar reagentes fora da data de vencimento (ver etiquetas).
- Não utilizar os reagentes se houver presença de precipitados.
- Durante a manipulação dos reagentes, deve-se utilizar equipamentos de proteção individual (EPI), como luvas descartáveis e aventais de proteção (jalecos).
- O reagente foi esterilizado por filtração através de um filtro de 0.2 µm para reduzir a contaminação. Uma vez que o frasco for aberto, o conteúdo permanece viável até a data de vencimento, desde que não haja nenhuma turbidez que indique contaminação ou deterioração.
- Este reagente possui azida sódica <0,1% e é classificado pelas Diretrizes aplicáveis da comunidade Européia (CE) como nocivo (Xn).
- Os materiais usados foram testados como negativos para HBsAg e anticorpos anti HIV1+2 e HCV com técnicas microbiológicas aprovadas.
- Nenhum teste pode garantir que produtos derivados de fontes animais ou humanas estejam livres de agentes infecciosos, portanto, todo cuidado deve ser tomado no manuseio e descarte de cada frasco e seu conteúdo.

NOTAS

- Recomenda-se que sejam testados um Controle Positivo e um Controle Negativo a cada bateria de testes. O teste deve ser considerado inválido se os controles não demonstrarem os resultados esperados.
- Quando definir um grupo sanguíneo de um paciente é importante que um controle negativo seja incluído, pois os potencializadores macromoleculares do reagente podem causar reações falso positivas com células revestidas com IgG.
- Amostras de sangue de subgrupos fracos A ou B (ex: Ax) podem aumentar os falso-negativos ou reações fracas quando testados em lâminas, microplacas ou cartões de gel. É recomendável o reteste de subgrupos fracos com a técnica em tubo.
- Indivíduos com mais de 6 meses devem ter seus resultados confirmados com teste para grupo A1 e células B em soro ou plasma antes que seja confirmado seu grupo sanguíneo ABO.
- Nas Técnicas Recomendadas um volume corresponde a aproximadamente 40µl, quando usando o conta-gotas fornecido com o frasco.
- O uso dos reagentes e a interpretação dos resultados devem ser realizados por pessoal treinado e qualificado, de acordo com os requerimentos do país onde o reagente está sendo usado.
- O usuário deve determinar a adequação do reagente para o uso em outras técnicas.

CONSERVAÇÃO

Os frascos originais devem ser armazenados de 2-8°C. Não congelar. O armazenamento prolongado a temperaturas fora das especificações pode resultar em perda acelerada da reatividade.

MATERIAL NECESSÁRIO

- Bastões aplicadores
- Leitor de placas automático
- Lâminas de vidro de microscopia
- Tubos teste de vidro (10 x 75 mm ou 12 x 75 mm).
- Agitador de placas
- Tampão salina fosfato (PBS)-NaCl 0,9% pH 7,0 ± 0,2 à 22°C ± 1°C ou Solução Fisiológica 0,9%.
- Controle de células vermelhas positivo (ideal grupo A2B) e negativo (grupo O)
- Placas – *DiaMed ID* (Neutra).
- Centrífuga *DiaMed ID*.
- Solvente *DiaMed ID*.
- Tubos teste de centrífuga
- Pipetas volumétricas
- Centrífuga de microplacas
- Microplacas "U" validadas

AMOSTRAS

As amostras de sangue colhidas com ou sem anticoagulante, podem ser usadas para tipagem antigênica. Se ocorrer algum atraso no teste, armazenar as amostras a 2-8°C. As amostras colhidas em EDTA ou citrato devem ser analisadas em 48 horas. As amostras colhidas em ACD, CPD ou CPDA-1 podem ser testadas até 35 dias após a coleta. Todas as amostras devem ser lavadas no mínimo duas vezes com tampão ou Solução Fisiológica 0,9% antes de serem testadas. Amostras com evidência de lise podem fornecer resultados não confiáveis.

TÉCNICAS RECOMENDADAS

A.Técnica em Tubo

- Preparar uma suspensão das células vermelhas a testar à 2-3%, lavadas em ou Solução Fisiológica 0,9%.
- Colocar em um tubo etiquetado: 1 volume de Reagente anti-ABO Spinreact e 1 volume da suspensão de células vermelhas a testar.
- Misturar totalmente e incubar a temperatura ambiente por 1 minuto.
- Centrifugar todos os tubos por 10 segundos a 1000 rcf ou por tempo e força alternativos adequados.
- Ressuspender a base de células vermelhas suavemente e ler a aglutinação macroscopicamente.
- Os tubos que demonstrarem um resultado negativo ou questionável devem ser incubados por 15 minutos a temperatura ambiente.
- Após a incubação repetir os passos 4 e 5.

B.Técnica em Lâmina

- Preparar uma suspensão de células vermelhas a testar a 35-45% em PBS ou Solução Fisiológica 0,9%.
- Colocar em uma lâmina de vidro marcada: 1 volume da suspensão de células vermelhas a testar e 1 volume de Reagente Anti-ABO Spinreact
- Usando um bastão aplicador limpo, misturar os reagentes em uma área de cerca de 20x40mm.
- Inclinar vagorosamente a lâmina por 30 segundos com agitações posteriores ocasionais durante um período de 2 minutos mantendo a temperatura ambiente.
- Ler macroscopicamente após 2 minutos em uma luz difusa e não confundir a presença de fibrina com aglutinação.
- Qualquer reação fraca deve ser repetida pela técnica em tubo.

C.Técnica de Microtipagem DiaMed-ID

- Preparar uma suspensão com 0,8% de hemácias a testar lavadas em Solvente ID.
- Preparar folhas de alumínio para tantos micro tubos quantos sejam necessários.
- Depositar no micro tubo apropriado: 50 µl da suspensão de hemácias e 25µl do reagente Anti-D.
- Centrifugar as placas *ID-Card(s)* durante 10 minutos a 90 rcf (g) ou a uma força e tempo alternativos adequados.
- Leer macroscopicamente por aglutinação.

D.Método em Microplaca Usando Cavidades em 'U'

- suspensão de células vermelhas a testar a 2-3% lavadas em PBS ou Solução Fisiológica 0,9%.
- Colocar na cavidade adequada: 1 volume da suspensão de células vermelhas a testar e 1 volume de Reagente Anti-ABO Spinreact
- Misturar totalmente, preferivelmente com um agitador de microplacas, tomando cuidado para evitar a contaminação cruzada entre as cavidades.
- Incubar a temperatura ambiente por 15 minutos.
- Centrifugar a microplaca por 1 minuto a 140rcf ou por tempo e força alternativos adequados.
- Ressuspender a base de células vermelhas suavemente usando agitação controlada em um agitador de microplacas.
- Ler a aglutinação macroscopicamente ou com um leitor validado.
- Qualquer reação fraca deve ser repetida pela técnica em tubo.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

- Positivo:** a aglutinação das células vermelhas teste constitui um resultado positivo e dentro das limitações aceitas do procedimento indicam a presença do antígeno apropriado ABO nas células teste.
- Negativo:** nenhuma aglutinação das células vermelhas teste constitui um resultado negativo e dentro das limitações aceitas do procedimento indicam a ausência de um antígeno apropriado ABO nas células teste.
- Discrepâncias:** se os resultados obtidos com o grupo reverso não se relacionarem com grupo pesquisado, é necessário continuar a investigação.
- Os resultados dos testes, cujo controle negativo forneceu aglutinação, devem ser excluídos, pois a aglutinação deve ser provavelmente causada pelo efeito do potencializador macromolecular do reagente.

Estabilidade das reações

- Muito cuidado na interpretação dos resultados dos testes realizados em outras temperaturas que não as recomendadas.
- Ler todos os tubos e microplacas logo após a centrifugação.
- Os testes em lâminas devem ser interpretados dentro de 2 minutos, para assegurar a especificidade e evitar a possibilidade de um resultado negativo ser incorretamente interpretado como positivo, devido ao ressecamento do reagente.

LIMITAÇÕES

- Os antígenos ABO não estão totalmente desenvolvidos no nascimento, portanto podem ocorrer reações fracas com amostras neonatais ou de cordão.
- Quando usar o Reagente anti-A,B Monoclonal em amostras de sangue de subgrupos fracos A ou B (ex: Ax), pode haver um aumento de resultados falso-negativos ou reações fracas em testes realizados em lâminas, placas ou cartões de gel. É aconselhável retestar os subgrupos fracos com a técnica em tubo.
- Os Reagentes Anti-A Monoclonal e Anti-B Monoclonal não são validados para a detecção de antígenos Ax e A3 ou Bx e B3 e, portanto, não há reatividade destes reagentes para os subgrupos fracos A e B.
- O sangue armazenado pode fornecer reações mais fracas que o sangue fresco.
- Resultados falso-positivos ou falso-negativos podem ocorrer devido a:
 - Contaminação do material a testar,
 - Concentração celular inadequada, tempo de incubação ou temperatura inadequada
 - Centrifugação inadequada ou excessiva
 - Desvio das técnicas recomendadas
 - Amostras de cordão contaminadas
- O utilizador é responsável pelo funcionamento dos reagentes em qualquer outro método, diferente dos mencionados como técnicas aqui detalhadas.
- Qualquer desvio às técnicas aqui recomendadas deverá ser validada antes da sua utilização.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO ESPECÍFICAS

- reagente foi caracterizado pelos procedimentos mencionados nas **Técnicas Recomendadas**.
- Antes de ser liberado, cada lote de Anti-A, Anti-B e Anti-A,B Spinreact é testado pelas **Técnicas Recomendadas** contra um painel de células vermelhas antígeno-positivas para assegurar reatividade adequada.
- A especificidade dos anticorpos monoclonais é demonstrada usando um painel de células antígeno-negativas.
- Anti-B Spinreact não reage com células B adquiridas.
- Os reagentes monoclonais ABO Spinreact não detectam antígenos como T, Tn ou Cad.
- A potência dos reagentes foi testada contra os padrões de referência mínimos obtidos do Instituto Nacional de Padrões e Controlos Biológicos.
 - Anti-A referência padrão 88/722 e/ou
 - Anti-B referência padrão 88/724
- O Controle de Qualidade deste reagente foi realizado usando células vermelhas lavadas com tampão PBS ou Solução Fisiológica 0,9% antes do uso.
- Os reagentes estão de acordo com recomendações do último artigo Guia de Transfusão de Sangue de United Kingdom.

BIBLIOGRAFIA

- Kholer G, Milstein C. Continuous culture of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975; 256, 495-497.
- Race RR, Sanger R. *Blood Groups in Man* 6th Edition, Oxford, Blackwell Scientific Publishers 1975, Chapter 2.
- Issitt PD. *Applied Blood Group Serology*, 3rd Edition, Montgomery Scientific, Miami, 1985, Chapter 10.
- Mollison PL. *Blood Transfusion in Clinical Medicine*, 8th Edition, Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1987, Chapter 7.
- Tippett P. Sub-divisions of the Rh (D) antigen. *Medical Laboratory Science* 1988; 45, 88-93
- Thompson KM, Hughes-Jones NC. Production and characteristics of monoclonal anti-Rh. *Bailliere's Clinical Haematology* 1990; April
- Jones J, Scott ML, Vosk D. Monoclonal anti-D specificity and Rh D structure: criteria for selection of monoclonal anti-D reagents for routine typing of patients and donors. *Transfusion Medicine* 1995; 5, 171-184.
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. H.M.S.O. Current Edition.
- 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.

APRESENTAÇÃO

Monoclonal Anti-A	Ref: 1700002	10 ml
Monoclonal Anti-B	Ref: 1700004	10 ml
Monoclonal Anti-A+B	Ref: 1700006	10 ml