

Determinación cualitativa de antígeno A y/o B en hematíes humanos

IVD
Conservar a 2-8 °C.

RESUMEN

En 1900, Landsteiner descubrió que el suero de algunas personas podía aglutinar los hematíes 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 % ¹
A	B	A,B	A ₁	A ₂	B	O		
+	0	+	0	0	+	0	A	43
0	+	+	+	+	0	0	B	9
0	0	0	+	+	+	0	O	44
+	+	+	0	0	0	0	AB	4

USO PREVISTO

Los reactivos ABO son reactivos para grupaje sanguíneo destinados a ser utilizados para determinar cualitativamente la presencia o ausencia de los antígenos A y B en hematíes de donantes de sangre o pacientes que requieren una transfusión de sangre cuando se analizan de acuerdo con los procedimientos establecidos en estas IDU.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Los reactivos contienen anticuerpos contra los antígenos A y/o B de hematíes humanos y provocará una aglutinación directa de los hematíes que lleven el antígeno ABO correspondiente. La no aglutinación indica en general la ausencia de los antígenos ABO correspondientes en los hematíes humanos (ver Limitaciones).

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. Los reactivos no contienen ni consisten en sustancias CMR, o sustancias disruptoras endocrinas o que puedan resultar en sensibilización o reacción alérgica por parte del usuario. Cada reactivo se suministra en la dilución óptima para su utilización en todos los procedimientos aquí recomendados 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 + ES15	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, pero no son suministrados estériles. 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.
- Dado que estos reactivos no contienen potenciadores macromoleculares, es muy poco probable que se produzcan falsas reacciones positivas con células recubiertas de IgG.
- Las muestras sanguíneas 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 in 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.
- Antes de usar, dejar que el reactivo alcance la temperatura ambiente. Tan pronto como se haya utilizado el reactivo, almacenarlo de nuevo a 2-8 °C.
- En los Procedimientos, un volumen equivale aproximadamente a 50 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 otros métodos.

CONSERVACIÓN

Los viales de reactivo deben almacenarse a 2-8 °C al recibirlos. El almacenamiento prolongado a temperaturas fuera de este rango puede resultar en una pérdida acelerada de la reactividad del reactivo. Este reactivo ha sido sometido a estudios de estabilidad en transporte a 37 °C y -25 °C como se describe en el documento BS EN ISO 23640:2015.

MATERIAL NECESARIO PERO NO PROPORCIONADO

- Palillos aplicadores.
- Lector de placas automático.
- Tarjetas Bio-Rad ID-Card (NaCl, prueba enzimática y crioaaglutininas).
- Centrífuga Bio-Rad ID-Centrífuga.
- Bio-Rad ID-CellStab o ID-Diluent 2.
- Portaobjetos de vidrio para microscopio o cartulinas blancas.
- Tubos de ensayo de vidrio (10 x 75 mm o 12 x 75 mm).
- Centrífuga de microplacas.
- Casets de Ortho BioVue System (neutros).
- Centrífuga Ortho BioVue System.
- Diluyente de hematíes Ortho 0.8% Red Cell Diluent.
- Agitador de placas.
- Solución de PBS (pH 6.8-7.2) o solución salina isotónica (pH 6.5-7.5).
- Hematíes para control positivo y negativo:
 - Anti-A: grupo A (control positivo) y grupo O (control negativo).
 - Anti-B: grupo B (control positivo) y grupo O (control negativo).
 - Anti-A, B: grupo A y grupo B (controles positivos) y grupo O (control negativo).
- Centrífuga de tubos de ensayo.
- Microplacas de pocillos en "U" validadas.
- Pipetas volumétricas.

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Las muestras de sangre se pueden recolectar en EDTA, citrato, anticoagulantes CPDA o como una muestra coagulada. Las muestras deben analizarse lo antes posible después de la recolección. Si se produce un retraso en la prueba, almacene las muestras a 2-8 °C. Las muestras que presenten hemólisis grave o contaminación microbiana no deben utilizarse para la prueba. Las muestras de sangre que muestran evidencia de lisis pueden dar resultados poco fiables. Es preferible (pero no esencial) lavar todas las muestras de sangre con PBS o solución salina isotónica antes de realizar la prueba.

PROCEDIMIENTOS

A. Método en Tubo

- Preparar una suspensión de hematíes al 2-3% en PBS o solución salina isotónica.
- Añadir en un tubo identificado: 1 volumen de reactivo Anti-ABO y 1 volumen de la suspensión de hematíes.

- 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 Bio-Rad ID (NaCl, prueba enzimática y tarjetas de crioaaglutininas)

- Preparar una suspensión de hematíes al 0.8% en ID-CellStab o ID-Diluent 2.
- Retirar el papel de aluminio de tantos microtubos como sea necesario.
- Colocar en un microtubo apropiado: 50 µL de suspensión de hematíes y 25 µL de reactivo Spinreact Anti-ABO.
- Centrifugar las tarjetas ID-Card en la centrífuga de tarjetas de gel Bio-Rad.
- Leer macroscópicamente en busca de aglutinación.

C. Método Ortho BioVue (casets neutrales)

- Preparar una suspensión de hematíes al 0.8% en Ortho 0.8% Red Cell Diluent.
- Retirar el papel de aluminio de tantas cámaras de reacción como sea necesario.
- Colocar en la cámara de reacción adecuada: 50 µL de suspensión de hematíes y 40 µL de reactivo Spinreact Anti-ABO.
- Centrifugar los casets en una centrífuga Ortho BioVue System.
- Leer macroscópicamente en busca de aglutinación.

D. Método de Microplaca, usando pocillos "U"

- Preparar una suspensión al 2-3% de hematíes en PBS o solución salina isotónica.
- Depositar en el pocillo apropiado: 1 volumen de reactivo Anti-ABO y 1 volumen de suspensión de hematíes.
- 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 el método en tubo.

E. Método en porta

- Preparar una suspensión de hematíes al 35-45% en suero, plasma o PBS o solución salina isotónica o usar sangre entera anticoagulada (en su propio plasma)
- Colocar en un portaobjetos de vidrio o tarjeta etiquetados: 1 volumen de reactivo Spinreact Anti-ABO y 1 volumen de suspensión de hematíes.
- Con un palillo aplicador limpio, mezclar el reactivo y las células en un área de aproximadamente 20 x 40 mm.
- Inclinar lentamente el portaobjetos hacia adelante y hacia atrás durante 30 segundos, y seguir mezclando ocasionalmente durante el período de 1 minuto, manteniendo el portaobjetos a temperatura ambiente.
- Leer macroscópicamente después de 1 minuto con luz difusa y no confundir las hebras de fibrina con aglutinación.
- Cualquier reacción débil debe repetirse mediante la técnica del tubo.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

- Positivo: La aglutinación de hematíes constituye un resultado positivo y dentro de las limitaciones aceptadas para el procedimiento del test, indica la presencia de antígeno ABO correspondiente en los hematíes.
- Negativo: La ausencia de aglutinación de hematíes constituye un resultado negativo y dentro de las limitaciones aceptadas para el procedimiento del test, indica la ausencia del antígeno ABO correspondiente en los hematíes.
- Discrepancias: Si no existe correlación entre los resultados obtenidos con el grupo directo y el grupo inverso, es preciso realizar más pruebas.

ESTABILIDAD DE LAS REACCIONES

- Leer los tests realizados en microplacas y tubos inmediatamente tras la centrifugación.
- Los tests en porta deben ser interpretados tras un máximo de 1 minuto 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 in tubo.
- Los reactivos de Spinreact monoclonales Anti A y Anti B no están validados para detectar los antígenos Ax, Ay, Bx, By ni B3 respectivamente. En consecuencia, no debe exigirse reactividad al reactivo monoclonal Anti A o Anti B frente a 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 mencionados en Procedimientos.
- Cualquier desviación de los procedimientos recomendados debería ser validada antes de su utilización⁵.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

- Antes de su liberación, cada lote de este reactivo se probó utilizando los métodos recomendados en estas IDU. Las pruebas cumplieron con los requisitos establecidos en la versión/edición actual de las "Directrices para los servicios de transfusión de sangre en el Reino Unido" y las "Especificaciones técnicas comunes".
- La especificidad en origen de los anticuerpos monoclonales está demostrada frente a un panel de hematíes antígenos-negativos.
- 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): estándar de referencia Anti-A 03/188 y / o estándar de referencia Anti-B 03/164.
- Spinreact Anti-B no reacciona con los hematíes "B adquiridos".
- Los reactivos Spinreact ABO monoclonales no detectan criptoantígenos como T, Tn o Cad.
- El Control de Calidad de los reactivos se realizó utilizando hematíes con fenotipos que fueron verificados por un centro de transfusión de sangre del Reino Unido y habían sido lavados con PBS o solución salina isotónica antes de su uso.

BIBLIOGRAFÍA

- Marion E. Reid and Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens and Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 181.
- Issitt PD, Applied Blood Group Serology, 3rd Edition, Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6.
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6th Edition 2002, The Stationary Office.
- AABB Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
- 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, Bio-Rad-ID, Ortho BioVue 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

SUMMARY

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 % ¹
A	B	A,B	A ₁	A ₂	B	O		
+	0	+	0	0	+	0	A	43
0	+	+	+	+	0	0	B	9
0	0	0	+	+	+	0	O	44
+	+	+	0	0	0	0	AB	4

INTENDED PURPOSE

The ABO reagents are blood grouping reagents intended to be used to qualitatively determine the presence or absence of the A and/or B antigens on the red cells of blood donors or patients requiring a blood transfusion when tested in accordance with the procedures stated in this IFU.

PRINCIPLE OF THE METHOD

The reagents contain antibodies against the appropriate A and/or B antigen on human red cells and will cause direct agglutination (clumping) of red cells that carry the corresponding ABO antigen. No agglutination generally indicates the absence of the corresponding ABO antigen on human red cells (see Limitations).

REAGENTS

Spinreact Monoclonal IgM ABO blood grouping reagents contain mouse monoclonal antibodies diluted in a phosphate buffer containing sodium chloride, EDTA and bovine albumin. The reagents do not contain or consist of CMR substances, or endocrine disrupting substances or that could result in sensitisation or an allergic reaction by the user. Each reagent is supplied at optimal dilution for use with all the procedures 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 + ES15	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, but are not supplied sterile. 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.
- Since these reagents do not contain macromolecular potentiators, it is very unlikely that false positive reactions are caused 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.
- Before use, let the reagent warm up to room temperature. As soon as the reagent has been used, put the reagent back in storage at 2-8°C.
- In the Procedures one volume is approximately 50µL 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

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. This reagent has undergone transportation stability studies at 37 °C and -25°C as described in document BS EN ISO 23640:2015.

REAGENTS AND MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Applicator sticks.
- Automatic plate reader.
- Bio-Rad ID-Cards (NaCl, enzyme test and cold agglutinins).
- Bio-Rad ID-Centrifuge.
- Bio-Rad ID-CellStab or ID-Diluent 2.
- Glass microscope slides or white card tiles.
- Glass test tubes (10 x 75 mm or 12 x 75 mm).
- Microplate centrifuge.
- Ortho BioVue System Cassettes (Neutral).
- Ortho BioVue System Centrifuge.
- Ortho 0.8% Red Cell Diluent.
- Plate shaker.
- PBS solution (pH 6.8-7.2) or Isotonic saline solution (pH 6.5-7.5).
- Positive and negative control red cells:
 - Anti-A: group A (positive control) and group O (negative control).
 - Anti-B: group B (positive control) and group O (negative control).
 - Anti-A,B: group A and group B (positive controls) and group O (negative control).
- Test tube centrifuge.
- Validated "U" well microplates.
- Volumetric pipettes.

SAMPLE COLLECTION AND PREPARATION

Blood samples can be collected into EDTA, citrate samples CPDA anticoagulants or as a clotted sample. The samples should be tested as soon as possible following collection. If a delay in testing should occur, store the samples at 2-8 °C. Samples displaying gross haemolysis or microbial contamination should not be used for testing. Blood samples showing evidence of lysis may give unreliable results. It is preferable (but not essential) to wash all blood samples with PBS or isotonic saline before being tested.

PROCEDURES

A. Tube Technique

- Prepare a 2-3% suspension of red cells in PBS or Isotonic saline.
- Place in a labelled test tube: 1 volume of Anti-ABO reagent and 1 volume of 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. Bio-Rad ID Technique (NaCl, enzyme test and cold agglutinins cards)

- Prepare a 0.8% suspension of red cells in ID CellStab or ID-Diluent 2.
- Remove aluminium foil from as many microtubes as needed.
- Place in appropriate microtube: 50µL of red cell suspension and 25µL of Spinreact Anti-ABO reagent.
- Centrifuge the ID-Card(s) in the Bio-Rad gel card centrifuge.
- Read macroscopically for agglutination.

C. Ortho BioVue Technique (Neutral cassettes)

- Prepare a 0.8% suspension of red cells in 0.8% Ortho Red Cell Diluent.
- Remove aluminium foil from as many reaction chambers as needed.
- Place in appropriate reaction chamber: 50µL of red cell suspension and 40µL of Spinreact Anti-ABO reagent.
- Centrifuge cassette(s) in an Ortho BioVue System Centrifuge.
- Read macroscopically for agglutination.

D. Microplate Technique, using "U" wells

- Prepare a 2-3% suspension of red cells in PBS or Isotonic saline.
- Place in the appropriate well: 1 volume Spinreact Anti-ABO reagent and 1 volume 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.

E. Slide Technique

- Prepare a 35-45% suspension of red cells in serum, plasma or PBS or Isotonic saline or use anti-coagulated whole blood (in its own plasma)
- Place on a labelled glass slide or card tile: 1 volume of Spinreact Anti-ABO reagent and 1 volume of 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 1-minute period, maintaining slide at room temperature.
- Read macroscopically after 1 minute over a diffuse light and do not mistake fibrin strands as agglutination.
- Any weak reactions should be repeated by the tube technique.

INTERPRETATION OF TEST RESULTS

- Positive: Agglutination of the red cells constitutes a positive test result and within accepted limitations of test procedure, indicates the presence of the appropriate ABO antigen on the red cells.
- Negative: No agglutination of the 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 red cells.
- Discrepancies: If the results obtained with reverse group don't correlate with forward group, further investigation is required.

STABILITY OF THE REACTIONS

- Read all tube and microplate tests immediately after centrifugation.
- Slide tests should be interpreted after a maximum of one minute 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 procedures.
 - Cord samples contaminated with Wharton's jelly.
- The user is responsible for the performance of the reagents by any method other than those mentioned in the Procedures.
- Any deviations from the recommended procedures should be validated prior to use⁵.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

- Prior to release, each lot of this reagent was tested using the recommended test methods listed in this IFU. The tests complied with the test requirements as stated in the current version/issue of the "Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom" and the "Common Technical Specifications".
- Specificity of source monoclonal antibodies is demonstrated using a panel of antigen-negative cells.
- 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 03/188 and / or Anti-B reference standard 03/164.
- 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 Quality Control of the reagents was performed using red cells with phenotypes that were verified by a UK blood transfusion centre and had been washed with PBS or Isotonic saline prior to use.

BIBLIOGRAPHY

- Marion E. Reid and Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens and Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 181.
- Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6.
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. 6th Edition 2002. The Stationary Office.
- AABB Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
- 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.

SOMMAIRE

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 % ¹
A	B	A,B	A ₁	A ₂	B	O		
+	0	+	0	0	+	0	A	43
0	+	+	+	+	0	0	B	9
0	0	0	+	+	+	0	O	44
+	+	+	0	0	0	0	AB	4

BUT PRÉVU

Les réactifs ABO sont des groupes sanguins réactifs destinés à être utilisés pour déterminer de manière qualitative la présence ou l'absence des antigènes A et/ou B sur les hématies de donneurs de sang ou de patients nécessitant une transfusion sanguine lorsque testé conformément à la procédure indiquée dans cette notice d'utilisation.

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Les réactifs contiennent des anticorps contre l'antigène A et/ou B approprié sur les globules rouges humains et provoquent l'agglutination directe des hématies qui portent l'antigène ABO correspondant. La non agglutination est généralement le signe de l'absence d'antigènes ABO correspondant sur les globules rouges humains (voir Limitations).

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. Les réactifs ne contiennent pas ou contiennent de substances CMR, ou de substances perturbatrices du système endocrinien ou pouvant entraîner une sensibilité ou une réaction allergique de l'utilisateur. 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'additifs 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 + ES15	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, mais ne sont pas fournis stériles. 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.
- Étant donné que ces réactifs ne contiennent pas de potentialisateurs macromoléculaires, il est très peu probable que fausses réactions positives sont causées par des 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 microtitrage 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.
- Avant utilisation, laissez le réactif se réchauffer à température ambiante. Dès que le réactif a été utilisé, mettez le réactif de nouveau en stockage à 2-8 °C.
- Dans les techniques que nous recommandons, un volume équivaut environ à 50 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

Les flacons de réactifs doivent être conservés à 2-8 °C à réception. Un stockage prolongé à des températures en dehors de cette plage peut entraîner une perte accélérée de la réactivité du réactif. Ce réactif a subi des études de stabilité au transport à 37 °C et -25 °C comme décrit dans le document BS EN ISO 23640:2015.

REACTIFS ET MATERIAUX REQUIS MAIS NON FOURNIS

- Bâtons applicateurs.
- Lecteur de plaques automatique.
- Cartes d'identité Bio-Rad (NaCl, test enzymatique et agglutinines froides).
- Centrifugeuse Bio-Rad ID.
- Bio-Rad-CellStab ou ID-Diluent 2.
- Lames de microscope en verre ou blanche tuiles de cartes.
- Tubes à essai en verre (10 x 75 mm ou 12 x 75 mm).
- Centrifuger pour microplaques.
- Ortho BioVue System Cassettes (neutre).
- Centrifuger Ortho BioVue System.
- Diluant Ortho 0,8% pour les globules rouges.
- Secoueur d'assiettes.
- Solution PBS (pH 6,8-7,2) ou Isotonique solution saline (pH 6,5-7,5).
- Globules rouges de contrôle positif et négatif :
 - Anti-A : groupe A (contrôle positif) et groupe O (contrôle négatif).
 - Anti-B : groupe B (témoin positif) et groupe O (témoin négatif).
 - Anti-A,B : groupe A et groupe B (témoin positif) et groupe O (contrôle négatif).
- Centrifuger pour tubes à essai.
- Microplaques à puits "U" validées.
- Pipettes volumétriques.

ÉCHANTILLONS COLLECTE ET PRÉPARATION

Des échantillons de sang peuvent être prélevés sur EDTA, des échantillons de citrate, des anticoagulants CPDA ou sous forme d'échantillon coagulé. Les échantillons doivent être testés dès que possible après le prélèvement. En cas de retard dans le test, conserver les échantillons à 2-8 °C. Les échantillons présentant une hémolyse importante ou une contamination microbienne ne doivent pas être utilisés pour les tests. Les échantillons de sang montrant des signes de lyse peuvent donner des résultats peu fiables. Il est préférable (mais pas indispensable) de laver tous les échantillons de sang avec du PBS ou une solution saline isotonique avant de les tester.

PROCÉDURES

A. Technique du Tube

- Préparer une suspension d'hématies à 2-3% dans du PBS ou solution saline isotonique.
- 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 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. Technique Bio-Rad ID (NaCl, test enzymatique et agglutinines froides)

- Préparer une suspension à 0,8% de globules rouges en ID CellStab ou ID-Diluant 2.
- Supprimer aluminium feuille d'autant de microtubes comme requis.
- Placer dans un microtube approprié : 50 µL de suspension de globules rouges et 25 µL de Spinreact Anti-ABO réactif.
- Centrifuger la ou les cartes d'identité dans les Bio-Rad carte de gel centrifuger.
- Lire macroscopiquement pour l'agglutination.

C. Technique Ortho BioVue (cassettes neutres)

- Préparer une suspension à 0,8% de globules rouges dans 0,8% de diluant Ortho Red Cell.
- Supprimer aluminium feuille d'autant de chambres de réaction comme requis.
- Placer dans une chambre de réaction appropriée : 50 µL de suspension de globules rouges et 40 µL de Spinreact Anti-ABO réactif.
- Centrifuger cassette(s) dans une centrifugeuse Ortho BioVue System.
- Lire macroscopiquement pour l'agglutination.

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

- Préparer une suspension d'hématies lavées à 2-3% dans du PBS ou solution saline isotonique.
- 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 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.

E. Technique sur lame

- Préparer une suspension d'hématies à 35-45% dans du sérum, plasma ou PBS ou Solution saline isotonique ou utiliser du sang total anticoagulé (en cason propre plasma).
- Déposer sur une lame de verre ou un carreau étiqueté : 1 volume de réactif Spinreact Anti-ABO et 1 volume de la suspension d'hématies.
- En utilisant un bâton 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 1 minute supplémentaire, en maintenant la lame à température ambiante.
- Lire de manière macroscopique 1 minute 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.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

- Positif : L'agglutination d'hématies constitue un résultat de test positif et, dans les limites acceptées pour la mise en œuvre de la technique, indique la présence de l'antigène ABO sur les globules rouges testés.
- 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.

STABILITÉ DES REACTIONS

- Lire les essais réalisés sur microplaques et tubes immédiatement après la centrifugation.
- Les essais sur lame doivent être interprétés dans un intervalle de 1 minute 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 nouveaux 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, la concentration cellulaire, le temps ou la température d'incubation inadéquats.
 - 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 utilisation⁵.

CARACTÉRISTIQUES DE LA METHODE

- Avant la libération, chaque lot de ce réactif a été testé à l'aide des méthodes de test recommandées répertoriées dans cette notice d'utilisation. Les tests étaient conformes aux exigences de test énoncées dans la version/le numéro actuel des « Directives pour les services de transfusion sanguine au Royaume-Uni » et les « Spécifications techniques communes ».
- La spécificité à l'origine des anticorps monoclonaux est prouvée par rapport à un panel d'hématies antigènes-négatif.
- 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 03/188 et / ou Anti B standard, avec référence 03/164.
- Les réactifs Anti-B de Spinreact ne réagissent pas en présence d'hématies « B Acquisies ».
- Les réactifs monoclonaux ABO de Spinreact ne détectent pas d'antigènes cryptiques T, Tn ou Cad.
- Le contrôle de qualité des réactifs a été effectué en utilisant des globules rouges avec des phénotypes qui ont été vérifiés par un centre de transfusion sanguine du Royaume-Uni et ont été lavés avec du PBS ou une solution saline isotonique avant utilisation.

BIBLIOGRAPHIE

- Marion E. Reid and Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens and Antibodies, SBB Books, New York 2007, Page 181.
- Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6.
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. 6th Edition 2002. The Stationary Office.
- AABB Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
- 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



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

Para técnicas em Tubo, Microplaca, Bio-Rad-ID, Ortho BioVue e Lâmina
Grupos sanguíneos

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

Conservar a 2-8 °C

RESUMO

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 % ¹
A	B	A,B	A ₁	A ₂	B	O		
+	0	+	0	0	+	0	A	43
0	+	+	+	+	0	0	B	9
0	0	0	+	+	+	0	O	44
+	+	+	0	0	0	0	AB	4

FINALIDADE PREVISTA

Os reagentes ABO são reagentes de agrupamento sanguíneo destinados a serem usados para determinar qualitativamente a presença ou ausência dos antígenos A e ou B nas hemácias de doadores de sangue ou pacientes que necessitam de transfusão de sangue quando testados de acordo com os procedimentos técnicos recomendados indicados nestas instruções de uso.

PRINCÍPIO DO MÉTODO

Os reagentes contêm anticorpos contra o antígeno A e / ou B apropriado nas hemácias humanas e 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 em glóbulos vermelhos humanos (ver limitações).

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. Os reagentes não contêm ou consistem em substâncias CMR, ou desreguladores endócrinos ou que possam resultar em sensibilização ou reação alérgica por parte do usuário. 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/Clon	Cor	Corante usado
Anti-A	9113D10	Azul	Azul patenteado
Anti-B	9621A8	Amarelo	Tartrazina
Anti-A,B	152D12 + 9113D10 + ES15	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, mas não são fornecidos estéreis. 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.
- Os reagentes contêm <0,1% de azida sódica. A azida sódica pode ser tóxica se ingerida e pode reagir com canalizações de chumbo e cobre para formar azidas metálicas explosivas. Na eliminação, enxágue com grandes volumes de água.
- 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.
- Para obter informações sobre o descarte do reagente e a descontaminação de um local de derramamento, consulte as Folhas de Dados de Segurança do Material, disponíveis mediante solicitação.

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.
- Uma vez que esses reagentes não contêm intensificadores macromoleculares, é muito improvável que reações falso-positivas sejam causadas por células revestidas com IgG.
- Amostras de sangue de subgrupos fracos A ou B (ex: Ax) podem aumentar os falso-negativos ou reações fracas quando testadas 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.
- Antes de usar, deixe o reagente aquecer até a temperatura ambiente. Assim que o reagente for usado, coloque-o de volta no armazenamento a 2-8 °C.
- Nas Técnicas Recomendadas um volume corresponde a aproximadamente 50 µL, 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 de reagente devem ser armazenados entre 2-8 °C no recebimento. O armazenamento prolongado em temperaturas fora dessa faixa pode resultar na perda acelerada da reatividade do reagente. Este reagente foi submetido a estudos de estabilidade no transporte a 37 °C e -25 °C, conforme descrito no documento BS EN ISO 23640: 2015.

REAGENTES E MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

- Bastões aplicadores.
- Leitor de placas automático.
- Cartões Bio-Rad ID-Cards (NaCl, teste enzimático e aglutininas frias).
- Centrífuga Bio-Rad ID.
- Bio-Rad ID-CellStab ou ID-Diluent 2.
- Lâminas de vidro de microscopia ou ladrilhos de cartão branco.
- Tubos teste de vidro (10 x 75 mm ou 12 x 75 mm).
- Centrífuga de placas.
- Cassetes Ortho BioVue System (Neutro).
- Centrífuga de Ortho BioVue System.
- Diluyente de glóbulos vermelhos Ortho 0,8%.
- Agitador de placas.
- Solução PBS (pH 6,8-7,2) ou solução salina isotônica (pH 6,5-7,5).
- Glóbulos vermelhos de controle positivo e negativo:
 - Anti-A: grupo A (controle positivo) e grupo O (controle negativo).
 - Anti-B: grupo B (controle positivo) e grupo O (controle negativo).
 - Anti-A, B: grupo A e grupo B (controles positivos) e grupo O (controle negativo).
- Centrífuga de tubo de ensaio.
- Microplacas com poço "U" validado.
- Pipetas volumétricas.

COLETA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

As amostras de sangue podem ser coletadas em EDTA, amostras de citrato, anticoagulantes CPDA ou como uma amostra coagulada. As amostras devem ser testadas o mais rápido possível após a coleta. Se ocorrer um atraso no teste, armazene as amostras entre 2-8 °C. Amostras com hemólise grosseira ou contaminação microbiana não devem ser usadas para o teste. Amostras de sangue que mostram evidências de lise podem fornecer resultados não confiáveis. É preferível (mas não essencial) lavar todas as amostras de sangue com PBS ou solução salina isotônica antes de serem testadas.

PROCEDIMENTOS

A. Técnica em Tubo

- Preparar uma suspensão das células vermelhas à 2-3%, em PBS ou solução salina isotônica.
- 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 de ID Bio-Rad (NaCl, teste de enzima e cartões de aglutininas frias)

- Preparar uma suspensão de glóbulos vermelhos a 0,8% em ID CellStab ou ID-Diluent 2.
- Remova a folha de alumínio de quantos microtubos forem necessários.
- Coloque no microtubo apropriado: 50 µL de suspensão de hemácias e 25 µL de reagente Spinreact Anti-ABO.
- Centrifugue o(s) cartão(ões) de identificação na centrífuga de cartão de gel Bio-Rad.
- Leia macroscopicamente para aglutinação.

C. Técnica Ortho BioVue (cassetes neutras)

- Preparar uma suspensão de glóbulos vermelhos a 0,8% em Diluyente de glóbulos vermelhos Ortho 0,8%.
- Remova a folha de alumínio de quantas câmaras de reação forem necessárias.
- Coloque na câmara de reação apropriada: 50 µL de suspensão de hemácias e 40 µL de reagente Spinreact Anti-ABO.
- Centrifuga cassette (s) em uma centrífuga Ortho BioVue System.
- Leia macroscopicamente para aglutinação.

D. Técnica em Microplaca Usando Cavidades em 'U'

- Preparar uma suspensão das células vermelhas à 2-3%, em PBS ou solução salina isotônica.
- 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 140 rcf 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.

E. Técnica em Lâmina

- Preparar uma suspensão de 35-45% de hemácias em soro, plasma ou PBS ou solução salina isotônica ou use sangue total anticoagulado (em seu próprio plasma)
- Colocar em uma lâmina de vidro marcada ou ladrilho de cartão: 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 20 x 40 mm.
- Inclinar vagarosamente a lâmina por 1 minuto com agitações posteriores ocasionais durante um período de 1 minuto mantendo a temperatura ambiente.
- Ler macroscopicamente após 1 minuto em uma luz difusa e não confundir a presença de fibrina com aglutinação.
- Qualquer reação fraca deve ser repetida pela técnica em tubo.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

- Positivo: a aglutinação das células vermelhas constitui um resultado positivo e dentro das limitações aceitas do procedimento indicam a presença do antígeno apropriado ABO nas células.
- Negativo: nenhuma aglutinação das células vermelhas constitui um resultado negativo e dentro das limitações aceitas do procedimento indicam a ausência de um antígeno apropriado ABO nas células.
- Discrepâncias: se os resultados obtidos com o grupo reverso não se relacionarem com grupo pesquisado, é necessário continuar a investigação.

ESTABILIDADE DAS REAÇÕES

- Ler todos os tubos e microplacas imediatamente após a centrifugação.
- Os testes em lâminas devem ser interpretados dentro de 1 minuto, para assegurar a especificidade e evitar a possibilidade de um resultado negativo ser incorretamente interpretado como positivo, devido ao ressecamento do reagente.
- Muito cuidado na interpretação dos resultados dos testes realizados em outras temperaturas que não as recomendadas.

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.
- Spinreact monoclonal Anti-A e anti-B monoclonal não são validados para detectar antígenos Ax e A3 ou Bx e B3 resp e, portanto, não reivindicamos reatividade do reagente anti-A ou Anti-B monoclonal contra estes fracos sub- A e B grupos.
- 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, tempo de incubação ou temperatura inadequadas
 - 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 utilização⁵.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO ESPECÍFICAS

- Antes da liberação, cada lote deste reagente foi testado usando os métodos de teste recomendados listados nestas instruções de uso. Os testes cumpriram os requisitos de teste indicados na versão / edição atual das "Diretrizes para os Serviços de Transfusão de Sangue no Reino Unido" e nas "Especificações Técnicas Comuns".
- A especificidade dos anticorpos monoclonais é demonstrada usando um painel de células antígeno-negativas.
- A potência dos reagentes foi testada contra os seguintes padrões de referência de potência mínima obtidos do Instituto Nacional de Padrões e Controles Biológicos (NIBSC): Padrão de referência Anti-A 03/188 e / ou padrão de referência Anti-B 03/164.
- Anti-B Spinreact não reage com células B adquiridas.
- Os reagentes Spinreact Monoclonal ABO não detectam antígenos de cripta, como T, Tn ou Cad.
- O Controle de Qualidade dos reagentes foi realizado usando glóbulos vermelhos com fenótipos que foram verificados por um centro de transfusão de sangue do Reino Unido e foram lavados com PBS ou solução salina isotônica antes do uso.

BIBLIOGRAFIA

- Marion E. Reid and Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens and Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 181.
- Issitt PD, Applied Blood Group Serology, 3rd Edition, Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6.
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. 6th Edition 2002. The Stationary Office.
- AABB Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
- 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

