



LORNE LABORATORIES LTD.

GREAT BRITAIN

REAGENTE DE GRUPO SANGUÍNEO MONOCLONAL

Somente para uso diagnóstico in-vitro – Pronto para uso

Anti-C+D+E monoclonal - Para técnicas em tubos, lâminas e microplacas.



ANTES DE UTILIZAR O PRODUTO, VERIFIQUE O NÚMERO DA INSTRUÇÃO DE USO E A VERSÃO CORRESPONDENTE NA EMBALAGEM DO MESMO.

PARA OBTER AS INSTRUÇÕES DE USO EM FORMATO IMPRESSO, SEM CUSTO ADICIONAL, CONTATAR O SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR: SAC (21) 3907-2534 / sac@kovalent.com.br

SUMÁRIO

Levine e Stetson descobriram o grupo sanguíneo Rh em 1940. Além do antígeno D, os outros maiores antígenos Rh são C, E, c, e. O antígeno D é altamente imunogênico; os antígenos C e e são menos imunogênicos que E e c. Os anticorpos correspondentes são todos clinicamente significativos, pois podem causar reações transfusionais e Doenças Hemolítica dos Recém-Nascido.

Antígenos Rh (frequência na população caucasiana)				
D	C	E	c	e
85	70	30	80	98

PRINCÍPIO

Os reagentes causam aglutinação direta das hemácias teste, que carregam o antígeno C e/ou D e/ou E. A ausência de aglutinação geralmente indica a ausência do antígeno Rh correspondente (ver limitações).

REAGENTES

Os reagentes de grupo sanguíneo IgM Anti-Rh Lorne são reagentes de baixa concentração proteica, contendo anticorpos monoclonais diluídos em cloreto de sódio 0,9%, contendo albumina bovina 6% e potencializadores macromoleculares. 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 a data de validade estão impressos nos rótulos dos frascos.

Reagente	Linha Celular /Clone
Anti-C+D+E	MS-24 + RUM-1 + MS-258

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO

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.

COLETA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

As amostras de sangue colhidas com ou sem anticoagulante. Se ocorrer algum atraso no teste, armazenar as amostras a 2-8°C. As amostras colhidas em EDTA ou citrato devem ser analisadas o mais rápido possível. As amostras colhidas em ACD, CPD ou CPDA-1 podem ser testadas até 35 dias após a coleta. Amostras com evidência de lise podem fornecer resultados não confiáveis.

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 rótulos).
- 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 HIV-1+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.

DESCARTE DO FRASCO DE REAGENTE E CONTEÚDO

Para informação de descarte do reagente e descontaminação, seguir as disposições da resolução sobre o regulamento técnico para gerenciamento de resíduos de serviços de saúde, bem como outras práticas de biossegurança equivalentes, vide revisão em vigor.

Caso necessário, consultar o MSDS (Material Safety Data Sheets) que pode ser disponibilizado quando requerido.

CONTROLES E AVISOS

- Recomenda-se que sejam testados um Controle Positivo (de preferência heterozigoto) e um Controle Negativo em paralelo a cada bateria de testes. O teste deve ser considerado inválido se os controles não demonstrarem os resultados esperados.
- Quando tipificar células vermelhas 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.
- Os antígenos Rhesus fracos são pobremente detectados pela técnica de cartões de gel, placa e lâmina. Recomenda-se o uso da técnica de tubos.
- Nas Técnicas Recomendadas um volume corresponde a aproximadamente 50µl, 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.

MATERIAL NECESSÁRIO

- Bastões aplicadores
- Leitor de placas automático
- Lâminas de microscópio de vidro
- Tubos teste de vidro (10 x 75 mm ou 12 x 75 mm).
- Centrífuga de microplaca
- Agitador de placa
- Tampão Salina Fosfato (PBS) - NaCl 0,9% pH 6,8-7,2 a 22°C ± 1°C ou Solução Fisiológica 0,9%.
- Controles de células hemácias (ideal R_{1r}) e negativo (rr)
- Centrífuga de tubos
- Microplacas em "U" validadas
- Pipetas volumétricas

TÉCNICAS RECOMENDADAS

Técnica em Tubo

- Preparar uma suspensão das hemácias a testar à 2-3% em PBS ou Solução Fisiológica 0,9%.
- Colocar em um tubo identificado: 1 volume de Reagente anti-Rh Lorne e 1 volume da suspensão de hemácias a testar.
- Misturar totalmente e centrifugar todos os tubos por 20 segundos a 1000 rcf ou por tempo e força alternativos adequados..
- Ressuspender o botão de hemácias suavemente e ler a aglutinação macroscopicamente.
- Qualquer tubo apresentando um resultado negativo ou questionável, deve ser incubado por 15 minutos a temperatura ambiente.
- Após a incubação repetir os passos 3 e 4.

Técnica em Microplaca Usando Cavidades em "U"

- Preparar uma suspensão de hemácias a testar a 2-3% em PBS ou Solução Fisiológica 0,9%.
- Colocar na cavidade adequada: 1 volume de suspensão de hemácias a testar e 1 volume de Reagente Anti-Rh Lorne
- Misturar totalmente, preferivelmente com um agitador de microplacas, tomando cuidado para evitar a contaminação cruzada de cavidades.
- Incubar a temperatura ambiente por 15 minutos.
- Centrifugar a microplaca por 1 minuto a 140rcf ou por tempo e força alternativos adequados.
- Ressuspender suavemente o botão de hemácias 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 do tubo.

Técnica em Lâmina

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

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

1. **Positivo:** A aglutinação das hemácias teste constitui um resultado positivo e, dentro das limitações aceitas do procedimento, indicam a presença do antígeno Rh apropriado nas células a testar.
2. **Negativo:** A ausência de aglutinação das hemácias teste constitui um resultado negativo e, dentro das limitações aceitas do procedimento, indicam a ausência do antígeno Rh apropriado nas células a testar.
3. 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

1. Muito cuidado na interpretação dos resultados dos testes realizados em outras temperaturas que não as recomendadas.
2. Ler todos os tubos e microplacas logo após a centrifugação.
3. Os testes de 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:

1. Reagentes Anti-Rh não são adequados para o uso com células tratadas com enzimas, ou para o uso em técnicas antiglobulinas indireta.
2. Alguns anticorpos humanos monoclonais IgM anti-Rh possuem atividade de aglutininas frias anti-I/I, particularmente com células do cordão ou células tratadas com enzimas. Isto pode ficar aparente se os testes forem incubados a temperaturas abaixo da recomendada.
3. Algumas células vermelhas expressam variantes de antígenos Rh e podem fornecer reações mais fracas que as encontradas com o controle positivo de células. Anti-C pode fornecer reações mais fracas com antígeno C de indivíduos R₂R₂. Similarmente anti-e pode fornecer reações mais fracas na ausência do antígeno C, R₂r, r⁺r e rr.
4. A supressão ou expressão diminuída de certos antígenos de grupo sanguíneo pode aumentar as reações falso-negativas, portanto cuidado deve ser tomado na determinação de genótipos baseados nestes resultados.
5. 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
 - Armazenamento inadequado dos materiais de teste
 - Desvio das técnicas recomendadas
6. Em caso de resultados duvidosos, lavar a amostra no mínimo duas vezes com tampão PBS ou Solução Fisiológica 0,9% e repetir o teste.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO ESPECÍFICAS

1. O reagente foi caracterizado pelos procedimentos mencionados nas **Técnicas Recomendadas**.
2. Antes de ser liberado, cada lote de Anti-C+D+E foi testado pelas **Técnicas Recomendadas** contra um painel de hemácias antígeno-positivas para assegurar reatividade adequada.
3. A especificidade dos anticorpos monoclonais é demonstrada usando um painel de células antígeno-negativas.
4. O Controle de Qualidade deste reagente foi realizado usando células vermelhas lavadas com PBS ou Solução Fisiológica 0,9% antes do uso.
5. Os reagentes estão de acordo com recomendações do último artigo "Guidelines for the UK Blood Transfusion Services".

GARANTIA

O usuário é responsável pelo desempenho dos reagentes e outras técnicas não recomendadas. Qualquer desvio das Técnicas Recomendadas deve ser validado antes do uso.

Estas instruções de uso devem ser lidas atentamente antes da utilização do produto e as instruções nela contidas devem ser rigorosamente cumpridas. A confiabilidade dos resultados do ensaio não poderá ser garantida em caso de desvio às instruções.

BIBLIOGRAFIA

1. Kholer G, Milstein C. Continuous culture of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature 1975, 256, 495-497.
2. Race RR, Sanger R. Blood Groups in Man 6th Edition, Oxford, Blackwell Scientific Publishers 1975, Chapter 2.
3. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition, Montgomery Scientific, Miami, 1985, Chapter 10.
4. Mollison PL. Blood Transfusion in Clinical Medicine, 8th Edition, Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1987, Chapter 7.
5. Tippett P. Sub-divisions of the Rh (D) antigen. Medical. Laboratory Science 1988; 45, 88-93
6. Thompson KM, Hughes-Jones NC. Production and characteristics of monoclonal anti-Rh. Bailliere's Clinical Haematology 1990; April
7. 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
8. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. H.M.S.O. Current Edition.
9. British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force. Recommendations for evaluation, validation and implementation of new techniques for blood grouping, antibody screening and cross matching. Transfusion Medicine, 1995, 5, 145-150.

APRESENTAÇÕES

Anti-C+D+E Monoclonal	10 ml
	10 x 10 ml

QUADRO DE SÍMBOLOS

REF	Numero do catálogo		Prazo de validade
	Para diagnóstico in vitro		Número de lote
	Fabricante		Ler as Instruções de Uso
	Conservar a		

INFORMAÇÕES AO CONSUMIDOR

Fabricado por:
Lorne Laboratories Ltda
Unit 1 Danehill
Cutbush Park Industrial Estate
Lower Earley
READING
Berks, RG6 4UT
United Kingdom

Importado e Distribuído por:
Koalent do Brasil Ltda.
Rua Cristóvão Sardenha, 110 – Jd. Bom Retiro
São Gonçalo – RJ – CEP 24722-350
www.koalent.com.br
CNPJ: 04.842.199/0001-56
Farm. Resp.: Jorge A. Janoni CRF: 2648-RJ
MS: 80115310119
SAC: sac@koalent.com.br - (21) 3907-2534