



LORNE LABORATORIES LTD.

GREAT BRITAIN

REAGENTE DE GRUPO SANGUÍNEO

Somente para uso diagnóstico *in vitro* – Pronto para uso

Anti-Di^a: Para técnicas de antiglobulina indireta



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

O grupo sanguíneo Diego foi descoberto em 1955 e recebeu esta denominação devido ao primeiro paciente a produzir um anticorpo contra antígeno do novo sistema de grupo sanguíneo. Anti-Di^a e Anti-Di^b são mais comumente associados com Doença Hemolítica do Recém-Nascido que com reações transfusionais. Doença Hemolítica do Recém-Nascido causada por anticorpos Diego são mais comuns no sudeste da Ásia e na América do Sul. Anti-Di^a é capaz de causar Doença Hemolítica do Recém-Nascido de moderada a severa, e casos tem sido reportados.

Anti-Di ^a	Anti-Di ^b	Fenótipo	Caucasianos/Negros	Asiáticos
+	0	Di (a+b-)	<0,01%	<0,01%
0	+	Di (a-b+)	>99,9%	>90%
+	+	Di (a+b+)	<0,1%	10%
0	0	Di (a-b-)	Excepcionalmente raro	

PRINCÍPIO

Os reagentes causam aglutinação indireta (clumping) das hemácias teste que carregam o antígeno Di^a correspondente, na fase antiglobulina do teste. A ausência de aglutinação geralmente indica a ausência do antígeno Di^a correspondente (ver limitações).

REAGENTES

O reagente de grupo sanguíneo Anti- Di^a Lorne é preparado a partir de soro humano diluído em solução de cloreto de sódio contendo potencializadores macromoleculares 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 a data de vencimento estão impressos nos rótulos dos frascos.

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 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 dentro de 7 dias após a coleta. 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 PBS ou Solução Fisiológica 0,9% antes de serem testadas.

PRECAUÇÕES

1. O reagente é somente para uso em diagnóstico *in vitro*.
2. Se o frasco estiver rachado ou vazando descartar o conteúdo imediatamente.
3. Não utilizar reagentes fora da data de vencimento (ver rótulos).
4. Não utilizar os reagentes se houver presença de precipitados.
5. Durante a manipulação dos reagentes, deve-se utilizar equipamentos de proteção individual (EPI), como luvas descartáveis e aventais de proteção (jalecos).

6. 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.
7. O plasma a partir do qual este reagente é fabricado não é mais delipidado, portanto é normal que o reagente tenha um aspecto turvo.
8. Este reagente possui <0,1% de azida sódica que pode ser tóxica se ingerida e pode reagir com encanamentos de cobre e chumbo formando azidas explosivas. Ao descartar, fluir em grandes volumes de água.
9. Os materiais usados foram testados como negativos para HBsAg, anticorpos de HIV 1+2 e HCV com técnicas microbiológicas aprovadas.
10. Nenhum teste conhecido 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

1. Recomenda-se que sejam testados um Controle Positivo (idealmente células heterozigóticas) 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.
2. As técnicas de antiglobulina podem ser consideradas válidas se todos os testes negativos reagirem positivamente com hemácias sensibilizadas por IgG.
3. Este reagente contém potencializadores macromoleculares que podem causar reações falso-positivas com células sensibilizadas com IgG, portanto, recomenda-se que as células do paciente sejam testadas com o plasma do paciente para verificação de reações falso-positivas.
4. Nas Técnicas Recomendadas um volume corresponde a aproximadamente 50 µl, quando usando o conta-gotas fornecido com o frasco.
5. 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.
6. O usuário deve determinar a adequação do reagente para o uso em outras técnicas.

MATERIAL NECESSÁRIO

- Globulina anti-humana, Lorne Polyspecific AHG Elite ou anti-IgG, Lorne AHG.
- Tubos teste de vidro (10 x 75 mm ou 12 x 75 mm).
- Hemácias sensibilizadas com IgG para controle
- Tampão salina fosfato (PBS) - pH 6.8-7.2 ou Solução Fisiológica 0,9% - pH 6.5-7.5.
- Controle de hemácias positivo (idealmente heterozigóticas) e negativo.
- Centrífuga de tubos teste.
- Pipetas volumétricas.
- Banho-maria ou incubadora de calor seco a 37° C ± 2° C

TÉCNICAS RECOMENDADAS

TÉCNICA DA ANTIGLOBULINA INDIRETA (TAI)

- 1- Preparar uma suspensão a 2-3% de hemácias teste lavadas em PBS ou Solução Fisiológica 0,9%.
- 2- Colocar em um tubo teste identificado: 1 volume do reagente anti- Di^a Lorne e 1 volume de suspensão de hemácias teste.
- 3- Misturar cuidadosamente e incubar a 37° C por 15 minutos.

- 4- Lavar as hemácias teste pelo menos 3 vezes com PBS ou Solução Fisiológica 0,9%, cuidando para decantar a salina entre as lavagens e ressuspender o botão de hemácias após cada lavagem. Decantar completamente a salina após a última lavagem.
- 5- Adicionar 2 volumes de antiglobulina humana ou anti-IgG .
- 6- Misturar cuidadosamente e centrifugar todos os tubos durante 20 segundos a 1000 rcf ou por um tempo e força alternativos adequados.
- 7- Ressuspender suavemente o botão de hemácias e examinar macroscopicamente a presença de aglutinação.
- 8- Confirmar a validação de todas as reações negativas com hemácias sensibilizadas com IgG.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

1. **Positivo:** A aglutinação das hemácias teste constitui um resultado positivo e, dentro das limitações aceitas para o procedimento, indica a presença do antígeno Di^a nas hemácias teste.
2. **Negativo:** Nenhuma aglutinação das hemácias teste constitui um resultado negativo e, dentro das limitações aceitas para o procedimento, indica a ausência do antígeno Di^a nas hemácias teste.

ESTABILIDADE DAS REAÇÕES

1. As etapas de lavagem devem ser completadas sem interrupção e os testes devem ser centrifugados e lidos imediatamente após a adição do reagente. Atrasos podem resultar na dissociação dos complexos antígeno-anticorpo, levando a resultados falso-negativos ou positivos fracos.
2. Deve-se ter cuidado na interpretação dos resultados dos ensaios realizados em temperaturas diferentes das recomendadas.

LIMITAÇÕES

1. Eritrócitos com um TAD positivo devido a um revestimento de IgG não podem ser tipificados pela técnica de antiglobulina indireta.
2. Anticorpos direcionados a antígenos de baixa frequência podem ocorrer como contaminantes insuspeitos em anti-soros de grupos sanguíneos. Adicionalmente, certos antígenos (Bg, Sd^a) podem estar presentes em um estado exacerbado nas hemácias. Este fenômeno pode ser fonte de reações falso-positivas raras, que podem ocorrer com mais de um lote de uma determinada especificidade.
3. Não é possível a ausência de todos os anticorpos contaminantes, pois as hemácias que carregam antígenos de baixa frequência ou antígenos exacerbados não estão sempre disponíveis para teste.
4. A supressão ou expressão diminuída de certos antígenos de grupo sanguíneo pode aumentar as reações falso-negativas, portanto todo 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

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO ESPECÍFICAS

1. O reagente foi caracterizado pelos procedimentos mencionados nas Técnicas Recomendadas.
2. Antes de ser liberado, cada lote de Anti-Dia Lorne é testado pelas Técnicas Recomendadas contra um painel de hemácias antígeno-positivas, para assegurar reatividade adequada.
3. A presença de anticorpos contaminantes contra antígenos com uma incidência de 1% ou mais dentro de uma população randomizada foi excluída tanto em testes empregando hemácias antígeno-negativas apropriadas, bem como em testes empregando os reagentes previamente absorvidos para a remoção de interferentes específicos.
4. Anticorpos contra Xg^a, Do^a, Yt^a, Co^b, Wr^a, Bg^a, e V^w não podem ser excluídos no teste de especificidade de rotina e a detecção dependerá da disponibilidade de células teste apropriadas. Isso também pode ser dito de Yt^b, M^b e V^w e outros antígenos de baixa frequência que não podem ser excluídos no teste de especificidade de rotina e a detecção dependerá da disponibilidade de células teste apropriadas.
5. O Controle de Qualidade deste reagente foi realizado usando hemácias lavadas duas vezes com tampão PBS ou Solução Fisiológica 0,9% antes do uso.
6. O reagente está de acordo com as recomendações da última versão da Guia para Transfusão de Sangue do Reino Unido.

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. Widman FK. Technical Manual, 9th Edition, American Association of Blood Banks, Arlington, VA, 1985; Chapter 8
2. Race RR, Sanger R. Blood Groups in Man, 6th Edition, Blackwell Scientific, Oxford 1975; Chapter 2
3. Mollison PL. Blood Transfusion in Clinical Medicine, 8th Edition, Blackwell Scientific, Oxford 1987; Chapter 7.
4. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6
5. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. H.M.S.O. Current Edition.
6. 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-Di ^a	1 X 2 mL 10 X 2 mL
----------------------	-----------------------

QUADRO DE SÍMBOLOS

REF	Número do catálogo		Prazo de validade
IVD	Para diagnóstico in vitro	LOT	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:
Kovalent do Brasil Ltda.
 Rua Cristóvão Sardenha, 110 – Jd. Bom Retiro
 São Gonçalo – RJ – CEP 24722-350
www.kovalent.com.br
 CNPJ: 04.842.199/0001-56
 Farm. Resp.: Jorge A. Janoni CRF: 2648-RJ
 MS: 80115310127
SAC: sac@kovalent.com.br - (21) 3907-2534