



LORNE LABORATORIES LTD.

GREAT BRITAIN

REAGENTE DE GRUPO SANGÜÍNEO 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 / 0800 015 1414 - 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-nascidos.

FINALIDADE

Anti-C+D+E monoclonal é um reagente de tipagem sanguínea destinado a ser utilizado para determinar qualitativamente a presença ou ausência do antígeno C (RH2) e/ou antígeno D (RH1) e/ou antígeno E (RH3) nas hemácias de doadores de sangue ou pacientes requerendo uma transfusão de sangue quando testado de acordo com as técnicas recomendadas nesta Instrução de Uso.

PRINCÍPIO

O reagente contém anticorpos anti antígenos C, D e E presentes em hemácias humanas, causando aglutinação direta das hemácias 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, contendo albumina bovina e potencializadores macromoleculares. O reagente não contém ou consiste em substâncias CMR, ou substâncias desreguladoras endócrinas ou que possam resultar em sensibilização ou reação alérgica por parte do usuário. O 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

Amostras de sangue colhidas sem ou com anticoagulantes (EDTA, citrato, CPDA) podem ser usadas para tipagem antigênica. As amostras devem ser testadas o mais rápido possível após a coleta. Se ocorrer algum atraso no teste, armazenar as amostras a 2-8°C. Amostras que apresentem hemólise grosseira ou contaminação microbiana não devem ser usadas para 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 fisiológica antes de serem testadas.

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 validade (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 filtrado através de um filtro de 0,2 µm para reduzir a carga biológica, mas não é fornecido estéril. Uma vez que o frasco for aberto, o conteúdo permanece viável até a data de validade, desde que não haja turbidez acentuada, que pode indicar deterioração ou contaminação do reagente.
- Este reagente contém <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.
- 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.

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 a Ficha de Segurança (MSDS - Material Safety Data Sheets) disponibilizado - com marcações das alterações

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 fracamente detectados pela técnica de cartões de gel, placa e lâmina. Recomenda-se o uso da técnica de tubos.
- Antes de usar, deixe o reagente atingir a temperatura ambiente. Assim que o reagente tiver sido utilizado, coloque o reagente de volta no armazenamento a 2-8°C.
- 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.

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”

1. Preparar uma suspensão de hemácias a testar a 2-3% em PBS ou Solução Fisiológica 0,9%.
2. Colocar na cavidade adequada: 1 volume de suspensão de hemácias a testar e 1 volume de Reagente Anti-Rh Lorne
3. Misturar totalmente, preferivelmente com um agitador de microplacas, tomando cuidado para evitar a contaminação cruzada de cavidades.
4. Incubar a temperatura ambiente por 15 minutos.
5. Centrifugar a microplaca por 1 minuto a 140 rcf ou por tempo e força alternativos adequados.
6. Ressuspender suavemente o botão de hemácias usando agitação controlada em um agitador de microplacas.
7. Ler a aglutinação macroscopicamente ou com um leitor validado.
8. 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 20 x 40mm.
4. Inclinar vagarosamente a lâmina por 30 segundos com agitações posteriores ocasionais durante um período de 2 minutos mantendo a lâmina à 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. **Controle:** 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. Algumas células vermelhas expressam variantes de antígenos Rh e podem fornecer reações mais fracas que as encontradas com o células controle positivo. 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.
3. 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.
4. 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 da liberação, cada lote de reagente foi testado usando os métodos de teste recomendados listados nesta Instrução de Uso. Os testes cumpriram os

requisitos de teste conforme declarado na versão/edição atual do “Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom”.

3. A especificidade dos anticorpos monoclonais é demonstrada usando um painel de células antigênicas negativas.
4. O controle de qualidade dos reagentes foi realizado usando hemácias com fenótipos verificados por um centro de transfusão de sangue do Reino Unido e lavados com PBS ou solução fisiológica antes do uso.

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. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition, Montgomery Scientific, Miami, 1985, Chapter 10.
2. AABB - Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
3. 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
4. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. 6th Edition 2002. The Stationary Office.
5. 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
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 Cutbush Park Industrial Estate
Danehill
Lower Earley
Berkshire, RG6 4UT
United Kingdom

Importado e Distribuído por:
Koalent do Brasil Ltda.
Rua Cristóvão Sardinha, 110 – Jd. Bom Retiro
São Gonçalo – RJ – CEP 24722-350
CNPJ: 04.842.199/0001-56

MS: 80115310119

SAC: +55 21 3907-2534 / 0800 015 1414
sac@koalent.com.br www.grupokovalent.com.br