



LORNE LABORATORIES LTD.

GREAT BRITAIN

REAGENTE POLIESPECÍFICO ANTIGLOBULINA HUMANA (COELHO) ANTI-IgG E ANTI-C3d BLENDED
Somente para uso diagnóstico *in vitro* – Pronto para uso.

ELITE Polyspecific AHG (Anti-Human Globulin) - Green: Para técnicas de antiglobulina



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

Em 1945, Coombs, Mourant e Race descreveram o uso de soro antiglobulina humana para a detecção de anticorpos não aglutinantes ligados a hemácias. Em 1957, Dacie et al demonstraram que os anticorpos presentes no soro antiglobulina eram direcionados contra certos componentes do complemento. Os reagentes antiglobulina humana detectam moléculas de anticorpos não- aglutinantes assim como moléculas do complemento ligadas a hemácias seguindo reações antígeno-anticorpo *in vivo* ou *in vitro*.

USO PRETENDIDO

Este é um reagente de tipagem sanguínea destinado à detecção qualitativa da presença ou ausência de anticorpos IgG sensibilizados (todas as 4 subclasses) e os fatores do sistema complemento C3d e C3b nas hemácias humanas, quando utilizado de acordo com as técnicas recomendadas contidas nesta Instrução de Uso.

PRINCÍPIO

O reagente contém anticorpos anti IgG humana e fatores do sistema complemento (C3d e C3b) presente em hemácias humanas, que causarão aglutinação direta (clumping) de glóbulos vermelhos que são sensibilizados com anticorpos IgG humanos e/ou fatores do complemento C3 (C3d e C3b). Nenhuma aglutinação geralmente indica a ausência de anticorpos IgG humanos sensibilizantes e fatores do complemento C3 (C3d e C3b) em glóbulos vermelhos humanos (ver limitações).

REAGENTE

O reagente Lorne Polyspecific Anti-Human Globulin Elite Green contém anti-IgG derivado de coelho, com atividade não específica removidas por adsorção e IgM monoclonal anti-C3d derivado de camundongo, Clone BRIC-8. O reagente não contém substâncias CMR (cancerígenas, mutagênicas ou tóxicas para a reprodução), substâncias desreguladoras endócrinas ou que podem levar a sensibilização ou reação alérgica pelo usuário. Os anticorpos são diluídos em uma solução tampão contendo 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.

Reagente	Clone	Cor	Corante
Elite Polisspecific AHG - green	anti-IgG humana derivado de coelho BRIC-8 (anti-C3d)	verde	Azul patenteado e Tartrazina

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO

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

COLETA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Amostras de sangue devem ser coletadas assepticamente em EDTA para prevenir a ligação do complemento *in vitro*, e testadas assim que possível. Amostras colhidas em ACD, CPD ou CPDA-1 podem ser testadas caso não sejam disponibilizadas em EDTA. Se forem disponibilizadas somente amostras coaguladas, não refrigerar antes do teste. Nas Técnicas de Antiglobulina Indireta, seguir o procedimento de lavagem prévia das amostras conforme bula do antissoro a ser utilizado.

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 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 contaminação, mas não é estéril. Uma vez que o frasco for aberto, o conteúdo deve permanecer viável até a data de validade, desde que não haja nenhuma turbidez que indique contaminação ou deterioração.
- Este reagente possui azida sódica <0,1% 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, revisão em vigor. Caso necessário, consultar a FDS (Ficha de Segurança), disponível mediante solicitação.

CONTROLES E AVISOS

- Recomenda-se que sejam testados um controle positivo (Anti-D fraco 0,1 IU/mL) e um controle negativo (soro inerte) em paralelo com cada bateria de testes. O teste deve ser considerado inválido se os controles não demonstrarem os resultados esperados.
- As técnicas de antiglobulina somente podem ser consideradas válidas se todos os testes negativos reagirem positivamente com hemácias sensibilizadas por IgG.
- Antes do uso, permita que o reagente atinja a temperatura ambiente. Uma vez que o reagente for utilizado, retornar imediatamente ao armazenamento em 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.

MATERIAL NECESSÁRIO

- Tubos teste de vidro (10 x 75 mm ou 12 x 75 mm)
- Hemácias sensibilizadas com IgG – Células Controle de Coombs
- Anticorpo inerte – Lorne Inert AB Serum
- Solução de baixa força iônica (LISS) contendo NaCl 0,03M, Na₂HPO₄ 0,003M : tampão NaH₂PO₄ pH 6.7 a 22°C ± 1°C e glicina 0.24M
- Tampão salina fosfato (PBS) - pH 6,8-7,2 ou Solução Fisiológica 0,9% - pH 6,5-7,5.
- Pipetas volumétricas
- Banho maria ou incubadora de calor seco equilibrada a 37°C ± 2°C
- Anti-D fraco – Lorne Precise Weak Anti-D
- Centrífuga de tubos teste

TÉCNICAS RECOMENDADAS

TÉCNICA DA ANTIGLOBULINA DIRETA (TAD)

1. Lavar 1 volume de hemácias teste 4 vezes com PBS ou Solução Fisiológica 0,9%, com cuidado para decantar a salina entre as lavagens e ressuspender o botão de hemácias após cada lavagem. Decantar completamente a salina após a última lavagem e preparar uma suspensão a 2-3% em PBS ou Solução Fisiológica 0,9%.
2. Adicionar 1 volume da suspensão de hemácias teste em um tubo identificado.
3. Adicionar 2 volumes de Elite Polyspecific AHG.
4. Homogeneizar cuidadosamente e centrifugar todos os tubos durante 20 segundos a 1000 rcf ou por um tempo e força alternativos e adequados.
5. Ressuspender suavemente o botão de hemácias e examinar macroscopicamente a presença de aglutinação.

TÉCNICA DA ANTIGLOBULINA INDIRETA (NISS TAI)

1. Preparar uma suspensão a 2-3% de hemácias teste em PBS ou Solução Fisiológica 0,9%.
2. Colocar em um tubo teste identificado: 2 volumes de soro teste 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 4 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 Lorne Elite Anti-Human Globulin.
6. Misturar cuidadosamente e centrifugar todos os tubos durante 20 segundos a 1000 rcf ou por um tempo e força alternativos e adequados.
7. Ressuspender suavemente o botão de hemácias e examinar macroscopicamente a presença de aglutinação.

TÉCNICA DA ANTIGLOBULINA INDIRETA LISS (LISS TAI)

1. Preparar uma suspensão a 1,5-2% de hemácias teste lavadas em LISS.
2. Colocar em um tubo teste identificado: 2 volumes de soro teste e 2 volumes de suspensão de hemácias teste.
3. Misturar cuidadosamente e incubar a 37° C por 15 minutos.
4. Seguir os passos 4 a 7 da técnica NISS TAI acima.

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 de IgG e/ou complemento (C3d/C3b) nas hemácias teste.
2. **Negativo:** Nenhuma aglutinação das hemácias teste constitui um resultado negativo e, dentro das limitações aceitas para o procedimento, indicam a ausência de IgG e/ou complemento (C3d/C3b) 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. Hemácias com um TAD positivo devido a um revestimento de IgG não podem ser tipificadas pela técnica de antiglobulina indireta.
2. Um TAD positivo devido à sensibilização pelo complemento pode não refletir a fixação do complemento *in vivo* se as células teste forem provenientes de amostras coaguladas e refrigeradas.
3. A lavagem inadequada das células na técnica de antiglobulina indireta pode neutralizar o reagente de antiglobulina humana.
4. Um excesso de salina residual proveniente da lavagem pode diluir a antiglobulina humana, reduzindo sua potência.
5. Um resultado negativo do teste de antiglobulina direta não exclui necessariamente o diagnóstico clínico de Doença Hemolítica ABO no recém-nascido ou Anemia Hemolítica Auto-imune. Também não necessariamente determina DHRN, especialmente se houver suspeita de incompatibilidade ABO.
6. Resultados falso-positivos ou falso-negativos podem ocorrer devido a:
 - Contaminação do material de teste
 - Armazenamento, concentração celular, tempo de incubação ou temperatura inadequados
 - Centrifugação inadequada ou excessiva

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO ESPECÍFICAS

1. O reagente foi caracterizado pelos procedimentos mencionados nas Técnicas Recomendadas. Antes de ser liberado, cada lote de Lorne Elite Anti-Human Globulin Clear e Elite Anti-Human Globulin Green foi testado pelas Técnicas Recomendadas contra hemácias revestidas com anti-D, anti-K e Anti-Fy^a para checar a reatividade adequada. Os testes cumpriram os requisitos de teste indicados na versão/edição atual do "Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom".
2. A potência de Anti-IgG e Anti-C3d foi testada contra um padrão de potência mínima referencial obtido do National Institute of Biological Standards and Controls (NIBSC): Anti-AHG referência 96/666.
3. A potência de anti-C3d é demonstrada em testes empregando células revestidas com C3.
4. A presença de aglutininas heteroespecíficas contaminantes ou anticorpos anti-C4d foram excluídas em testes empregando células de todos os grupos ABO e células revestidas com C4d.
5. Não foi estabelecida a reatividade de qualquer Anti-IgM, Anti-IgA ou Anti-componentes de cadeia leve que estejam presentes.
6. O Controle de Qualidade dos reagentes foi realizado utilizando hemácias com fenótipos verificados por um centro de transfusão de sangue do Reino Unido e que foram lavadas com PBS ou Solução Fisiológica 0,9% 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 (6).

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. Voak D, Downie DM, Moore BPL, and Engelfreit CP. Anti-Human Globulin reagent specification. The European and ISBT/ICSH View. Biotech Bulletin 1; 7-22 (1986).
2. The Department of Health and Social Security. Health Services Management Antiglobulin Test. False negative results, HN (Hazard) (83) 625 Nov 1983.
3. Bruce M, Watt AH, Hare W, Blue A, Mitchell R. A serious source of error in antiglobulin testing. Transfusion 1986; 26: 177-181.
4. Voak D, Downie DM, Moore BPL, Ford DS, Engelfreit CP, Case J. Replicate tests for the detection and correction of errors in anti-human globulin (AHG) ests: optimum conditions and quality control. Haematologia 1988; 21(1): 3-16.
5. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. 6th Edition 2002. The Stationery Office.
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

ELITE Polyspecific AHG (Green)	1 x 10 ml 10 x 10 ml
----------------------------------	-------------------------

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 Sardinha, 110 – Jd. Bom Retiro
São Gonçalo – RJ – CEP 24722-350
CNPJ: 04.842.199/0001-56
MS: 80115310129

SAC: (21) 3907-2534 / 0800 015 1414

sac@kovalent.com.br

www.grupokovalent.com.br