



REAGENTE ANTI-COMPLEMENTO MONOCLONAL INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Anti-C3d Monoclonal: para técnicas em tubo diretas.

RESUMO

Sem complemento, a sensibilização e aglutinação por qualquer anticorpo ficariam incompletas e seriam ineficazes. As proteínas do sistema de complemento constituem um sistema altamente complexo, envolvendo até 24 entidades química e biologicamente distintas.

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

Este reagente é um reagente de determinação do grupo sanguíneo destinado a ser utilizado para determinar qualitativamente a presença ou ausência de fatores de complemento C3d e C3b em hemácias humanas, quando testadas em conformidade com as técnicas recomendadas nestas Instruções de utilização.

PRINCÍPIO

O reagente contém anticorpos contra fatores de complemento C3 (C3d e C3b) em hemácias humanas e provoca a aglutinação (agregação) direta de hemácias que estejam sensibilizadas com fatores de complemento C3 (C3d e C3b). A não ocorrência de aglutinação (ausência de agrupamento) indica, geralmente, a ausência de fatores de complemento C3 (C3d e C3b) em hemácias humanas (consulte **LIMITAÇÕES**).

REAGENTE

O reagente de determinação do grupo sanguíneo Lorne Monoclonal IgM Anti-C3d contém anticorpos anti-C3d monoclonais de camundongo, clone BRIC-8. O reagente não contém nem consiste em substâncias cancerígenas, mutagênicas ou tóxicas para a reprodução (CMR), substâncias passíveis de causarem a desregulação do sistema endócrino nem substâncias passíveis de causarem sensibilização ou uma reação alérgica no utilizador. O reagente é fornecido na diluição ideal para utilização com todas as técnicas recomendadas indicadas abaixo, sem necessidade de diluição ou acréscimo adicional. Para obter informações sobre o número de referência do lote e o prazo de validade, consulte o **rótulo do frasco**.

CONSERVAÇÃO

Após receção, os frascos de reagente devem ser conservados entre 2–8 °C. A conservação prolongada a temperaturas fora deste intervalo pode resultar em perda acelerada de reatividade do reagente. Este reagente foi submetido a estudos de estabilidade durante o transporte a 37 °C e –25 °C, conforme descrito no documento BS EN ISO 23640:2015.

COLHEITA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

As amostras de sangue podem ser colhidas em anticoagulantes EDTA, citrato e CPDA, ou como amostras coaguladas. As amostras devem ser testadas assim que possível após a colheita. Em caso de adiamento do teste, conserve as amostras a 2–8 °C. As amostras que apresentem hemólise visível ou contaminação microbiana não devem ser utilizadas para teste. As amostras de sangue que revelem evidências de lise podem apresentar resultados pouco fiáveis. É preferível (mas não essencial) lavar todas as amostras de sangue com solução salina tamponada com fosfato (PBS) ou solução salina isotónica antes de testá-las.

PRECAUÇÕES

1. O reagente destina-se apenas a utilização em diagnóstico *in vitro*.
2. Se um frasco de reagente estiver partido ou apresentar fugas, elimine o conteúdo imediatamente.
3. Não utilize o reagente após o prazo de validade (consulte o **rótulo do frasco**).
4. Não utilize o reagente se estiver presente precipitado.
5. Ao manusear reagentes deve utilizar-se vestuário de proteção, como luvas descartáveis e uma bata de laboratório.
6. O reagente foi filtrado através de uma cápsula de 0,2 µm para reduzir a carga biológica, mas não é fornecido estéril. Quando um frasco é aberto, o conteúdo do mesmo deverá manter-se viável até ao fim do prazo de validade, desde que não exista turvação acentuada, a qual pode indicar deterioração ou contaminação do reagente.
7. O reagente contém <0,1% de azida de sódio. A azida de sódio pode ser tóxica se ingerida e pode reagir com tubagens de chumbo e cobre, formando azidas metálicas explosivas. Aquando da eliminação, enxague com grandes volumes de água.
8. Os materiais utilizados para produzir os produtos foram testados na origem e demonstraram ser negativos para anticorpos contra o VIH 1, VIH 2 e VHC, bem como para HBsAg, utilizando testes microbiológicos aprovados.
9. Nenhum teste conhecido pode garantir que os produtos de origem humana ou animal estão isentos de agentes infecciosos. Deve ter-se cuidado na utilização e eliminação de cada frasco e respetivo conteúdo.

ELIMINAÇÃO DO REAGENTE E CONTROLO DE DERRAMES

Para obter informações sobre a eliminação do reagente e a descontaminação de um derrame, consulte a **Ficha de Dados de Segurança**, disponível mediante pedido.

CONTROLOS E RECOMENDAÇÕES

1. Recomenda-se que seja testado um controlo positivo (células revestidas com C3d e C3b) e um controlo negativo em paralelo com cada lote de testes. Os testes devem ser considerados inválidos se os controlos não apresentarem os resultados esperados.
2. Antes da utilização, deixe o reagente aquecer até à temperatura ambiente. Assim que o reagente tiver sido utilizado, volte a conservá-lo a 2–8 °C.
3. Nas **Técnicas recomendadas**, um volume corresponde a cerca de 50 µl quando é utilizado o conta-gotas do frasco fornecido.
4. A utilização do reagente e a interpretação dos resultados devem ser realizadas por profissionais qualificados e com a devida formação, de acordo com os requisitos em vigor no país onde os reagentes são utilizados.
5. O utilizador tem de determinar a adequabilidade do reagente para utilização com outras técnicas.

REAGENTES E MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

- Tubos de teste de vidro (10 x 75 mm ou 12 x 75 mm).
- Solução PBS (pH 6,8–7,2) ou solução salina isotónica (pH 6,5–7,5).
- Células de controlo positivo (revestidas com C3d e C3b) e de controlo negativo.
- Centrifugadora capaz de girar a 1000 g durante 20 segundos.
- Pipetas volumétricas.

TÉCNICA RECOMENDADA

A. Técnica de antiglobulina direta (DAT)

1. Lave 1 volume de hemácias (suspensão a 2–3% em solução salina tamponada com fosfato (PBS) ou solução salina isotónica) 4 vezes com solução salina tamponada com fosfato (PBS) ou solução salina isotónica, tendo o cuidado de decantar a solução salina entre lavagens e de ressuspender cada botão de células após cada lavagem. Decante completamente a solução salina após a última lavagem.
2. Adicione 2 volumes de Lorne Anti-C3d a cada botão de células secas.
3. Misture bem e, em seguida, centrifugue todos os tubos durante 20 segundos a 1000 rcf (força centrífuga relativa) ou utilizando um período de tempo e uma força alternativos adequados.
4. Com cuidado, proceda à ressuspensão do botão de hemácias e leia macroscopicamente para deteção de aglutinação.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS DE TESTE

1. **Positivo:** a aglutinação de hemácias constitui um resultado de teste positivo e dentro das limitações aceites do procedimento de teste, indicando a presença de complemento (C3d e/ou C3b) nas hemácias.
2. **Negativo:** a não ocorrência de aglutinação das hemácias constitui um resultado negativo e dentro das limitações aceites do procedimento de teste, indicando a ausência de complemento (C3d e/ou C3b) nas hemácias.

ESTABILIDADE DAS REAÇÕES

1. Os passos de lavagem devem ser realizados sem interrupções e os testes devem ser centrifugados e lidos imediatamente após a adição do reagente. Os atrasos podem resultar na dissociação de complexos antígeno-anticorpo, causando resultados negativos falsos ou fracos positivos.
2. Deve ter-se cuidado na interpretação dos resultados de testes realizados a temperaturas que não as **recomendadas**.

LIMITAÇÕES

1. A lavagem inadequada de hemácias pode resultar em neutralização do reagente.
2. Após a conclusão da fase de lavagem, a solução salina residual em excesso pode diluir o reagente anti-C3d, reduzindo a potência do mesmo.
3. Um teste de antiglobulina direta positivo devido a sensibilização do complemento pode não refletir a fixação do complemento *in vivo* se as células de teste forem de uma amostra de sangue coagulado previamente refrigerada.
4. Um teste de antiglobulina direta negativo não exclui necessariamente o diagnóstico clínico de doença hemolítica do recém-nascido ABO ou de anemia hemolítica autoimune. Também não exclui necessariamente a doença hemolítica do recém-nascido, especialmente em caso de suspeita de incompatibilidade ABO.

5. Também podem ocorrer resultados positivos falsos ou negativos falsos devido a:

Contaminação dos materiais de teste

Inadequação da conservação, concentração de células, tempo de incubação ou temperatura inadequados

Centrifugação inadequada ou excessiva

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO ESPECÍFICAS

1. Antes da libertação, cada lote destes reagentes foi testado utilizando os métodos de teste recomendados indicados nestas Instruções de utilização. Os testes cumpriram os requisitos de teste indicados na versão/edição atual das "Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom" (Linhas de Orientação para os Serviços de Transfusão de Sangue no Reino Unido).
2. A potência do reagente anti-C3d foi testada comparativamente com o seguinte padrão de referência de potência mínima do Instituto Nacional de Padrões e Controlos Biológicos (NIBSC, National Institute of Biological Standards and Controls):
 - padrão de referência anti-AHG 96/666
3. A potência do reagente anti-C3d é demonstrada em testes que utilizam células revestidas com C3.
4. A presença de aglutininas heteroespecíficas contaminantes ou de anticorpos contra o C4d foi excluída em testes que utilizaram hemácias de todos os grupos ABO e células revestidas com C4d.
5. O controlo de qualidade dos reagentes foi realizado utilizando hemácias com fenótipos que foram verificados por um centro de transfusões de sangue no Reino Unido e tinham sido lavadas com solução salina tamponada com fosfato (PBS) ou solução salina isotónica antes da utilização.

ISENÇÃO DE RESPONSABILIDADE

1. O utilizador é responsável pelo desempenho do reagente quando utilizado em qualquer outro método que não os mencionados em **Técnica recomendada**.
2. Eventuais desvios relativamente à **Técnica recomendada** devem ser validados antes da utilização⁶.

BIBLIOGRAFIA

1. Voak D, Downie DM, Moore BPL, and Engelfreit CP. Anti-Human Globulin reagent specification. The European and ISBT/ICSH View. Biotest 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 AHG (AHG) tests: 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 Stationary 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 DISPONÍVEIS DO REAGENTE

Tamanho do frasco	Número de catálogo	Testes por frasco
2 ml	427002	20
1000 ml	427000*	10 000

*Esta apresentação é apenas para Utilização em Fabrico Posterior (FFMU, For Further Manufacturing Use), pelo que não possui a marca CE.



Lorne Laboratories Limited

Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate

Danehill

Lower Earley

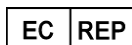
Berkshire, RG6 4UT

Reino Unido

Tel.: +44 (0) 118 921 2264

Fax: +44 (0) 118 986 4518

E-mail: info@lornelabs.com



Advena Ltd. Tower Business Centre, 2nd Flr.,
Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta