

REAGENTE DE GLOBULINA ANTI-HUMANA MONOESPECÍFICO (COELHO)
INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

Anti-Human IgG (Clear) ou Anti-Human IgG (Green): Para técnicas de antiglobulina.

RESUMO

Em 1945, Coombs, Mourant e Race descreveram a utilização de soro globulina anti-humana para a deteção de anticorpos não aglutinantes ligados a hemácias.

UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

Estes reagentes são reagentes de determinação do grupo sanguíneo monoespecíficos destinados a serem utilizados para detetar qualitativamente a presença ou ausência de anticorpos IgG sensibilizantes (todas as 4 subclasses) em hemácias humanas, quando testadas em conformidade com as técnicas recomendadas nestas Instruções de utilização.

PRINCÍPIO

Os reagentes contêm anticorpos contra anticorpos IgG humanos em hemácias humanas e provocam a aglutinação (agregação) direta de hemácias que estejam sensibilizadas com anticorpos IgG humanos. A não ocorrência de aglutinação (ausência de agrupamento) indica, geralmente, a ausência de anticorpos IgG humanos sensibilizantes em hemácias humanas (consulte **LIMITAÇÕES**).

REAGENTES

Os reagentes Lorne Monospecific Anti-Human IgG Clear e Anti-Human IgG Green contêm anticorpos anti-IgG derivados de coelhos. Toda a atividade não específica é removida por adsorção. Os reagentes não contêm nem consistem em substâncias cancerígenas, mutagénicas 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. Os reagentes são fornecidos 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**.

Reagente	Linha/clone celular	Cor	Corante utilizado
Anti-Human IgG Clear	IgG anti-humana de coelho	Incolor	Nenhum
Anti-Human IgG Green	IgG anti-humana de coelho	Verde	Azul patenteado e tartrazina

CONSERVAÇÃO

Após receção, os frascos de reagente devem ser armazenados a 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 EN13640:2002.

COLHEITA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

As amostras devem ser colhidas de forma asséptica em EDTA e testadas logo que possível. Caso não esteja disponível EDTA, as amostras colhidas em ACD, CPD ou CPDA-1 são preferíveis às coaguladas. Se apenas estiverem disponíveis amostras coaguladas, não as refrigere antes do teste. Todas as amostras de sangue devem ser lavadas duas vezes, no mínimo, com solução salina tamponada com fosfato (PBS) ou solução salina isotónica antes de testá-las.

PRECAUÇÕES

- Os reagentes destinam-se apenas a utilização em diagnóstico *in vitro*.
- Se um frasco de reagente estiver partido ou apresentar fugas, elimine o conteúdo imediatamente.
- Não utilize os reagentes após o prazo de validade (consulte o **rótulo do frasco**).
- Não utilize os reagentes se estiver presente precipitado.
- Ao manusear reagentes deve utilizar-se vestuário de proteção, como luvas descartáveis e uma bata de laboratório.
- Os reagentes foram filtrados através de uma cápsula de 0,2 µm para reduzir a carga biológica, mas não são fornecidos estéreis. 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.
- Os reagentes contêm <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.
- 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.

- 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 dos reagentes e a descontaminação de um derrame, consulte a **Ficha de Dados de Segurança de Materiais**, disponível mediante pedido.

CONTROLOS E RECOMENDAÇÕES

- Recomenda-se que seja testado um controlo positivo (anti-D fraco <0,1 UI/ml) e um controlo negativo (um soro inerte) em paralelo com cada lote de testes. Os testes devem ser considerados inválidos se os controlos não apresentarem os resultados esperados.
- As técnicas de antiglobulina apenas podem ser consideradas válidas se todos os testes negativos reagirem positivamente com hemácias sensibilizadas com IgG.
- 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.
- Nas **Técnicas recomendadas**, um volume corresponde a cerca de 50 µl quando é utilizado o conta-gotas do frasco fornecido.
- A utilização dos reagentes 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.
- O utilizador tem de determinar a adequabilidade dos reagentes para utilização com outras técnicas.

REAGENTES E MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

- Agente de lavagem de células Coombs.
- Tubos de teste de vidro (10 x 75 mm ou 12 x 75 mm).
- Hemácias sensibilizadas com IgG, ou seja, Lorne Coombs Control Cells (número de catálogo: 970010).
- Anticorpos inertes, isto é, Lorne Inert AB Serum (número de catálogo: 110010).
- Solução de baixa força iónica (LISS): com 0,03 M de NaCl, 0,003 M de Na₂HPO₄; tampão NaH₂PO₄ com pH 6,7 a 22 °C ± 1 °C e 0,24 M de glicina.
- Solução PBS (pH 6,8-7,2) ou solução salina isotónica (pH 6,5-7,5).
- Pipetas volumétricas.
- Banho-maria ou incubadora de calor seco calibrada para 37 °C ± 2 °C.
- Anticorpos anti-D fracos, isto é, Lorne Precise Weak Anti-D (número de catálogo: 209005).

TÉCNICAS RECOMENDADAS

A. Técnica de antiglobulina direta (TAD)

- Lave as hemácias de teste 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.
- Adicione 2 volumes de Lorne Anti-IgG a cada botão de células secas.
- 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.
- Com cuidado, proceda à ressuspensão do botão de hemácias e leia macroscopicamente para deteção de aglutinação.

B. Técnica de antiglobulina indireta (NISS IAT)

- Prepare uma suspensão a 2-3% de hemácias de teste lavadas em solução salina tamponada com fosfato (PBS) ou solução salina isotónica.
- Coloque num tubo de teste rotulado: 2 volumes de soro de teste e 1 volume de suspensão de hemácias de teste.
- Misture bem e incube a 37 °C durante 15 minutos.
- Lave as hemácias de teste 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 hemácias após cada lavagem. Decante completamente a solução salina após a última lavagem.
- Adicione 2 volumes de Lorne Anti-IgG a cada botão de células secas.
- 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.
- Com cuidado, proceda à ressuspensão do botão de hemácias e leia macroscopicamente para deteção de aglutinação.

C. Técnica de antiglobulina indireta em LISS (LISS IAT)

1. Prepare uma suspensão a 1,5–2% de hemácias de teste lavadas em LISS. Coloque num tubo de teste rotulado: 2 volumes de soro de teste e 2 volumes de suspensão de hemácias de teste.
2. Misture bem e incube a 37 °C durante 15 minutos.
3. Siga os passos 4 a 7 da técnica TAI NISS acima.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS DE TESTE

1. **Positivo:** a aglutinação de hemácias de teste constitui um resultado de teste positivo e dentro das limitações aceites do procedimento de teste, indicando a presença de IgG nas hemácias de teste.
2. **Negativo:** a não ocorrência de aglutinação das hemácias de teste constitui um resultado negativo e dentro das limitações aceites do procedimento de teste, indicando a ausência de IgG nas hemácias de teste.

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 antigénio-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. Hemácias com um teste de antiglobulina direta (TAD) positivo devido a um revestimento de IgG não podem ser submetidas a tipagem pela **técnica de antiglobulina indireta**.
2. A lavagem inadequada de hemácias na técnica de antiglobulina indireta pode resultar na neutralização do reagente de globulina anti-humana.
3. Um teste de antiglobulina direta (TAD) positivo devido a sensibilização do complemento pode não refletir a fixação do complemento *in vivo* se as células de teste forem de uma amostra coagulada 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
 - Centrifugação inadequada ou excessiva
 - Desvio das técnicas recomendadas

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, comparativamente com hemácias revestidas com anti-D, anti-K e anti-Fy^a, de modo a verificar a reatividade adequada. 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 Transusão de Sangue no Reino Unido).
2. A potência do reagente anti-IgG 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 reatividade de eventuais componentes anti-IgM, anti-IgA ou anti-cadeia ligeira, que poderão estar presentes, não foi comprovada.
4. 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 dos reagentes quando utilizados em qualquer outro método que não os mencionados em **Técnicas recomendadas**.
2. Eventuais desvios relativamente às **Técnicas recomendadas** 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.

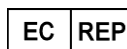
APRESENTAÇÕES DISPONÍVEIS DO REAGENTE

	Tamanho do frasco	Número de catálogo	Testes por frasco
Lorne Anti-Human IgG (Clear)	10 ml	401010	100
	1000 ml	401000*	10 000
Lorne Anti-Human IgG (Green)	10 ml	402010	100
	1000 ml	402000*	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