



REAGENTE DE GRUPO SANGUÍNEO - MONOCLONAL
Somente para uso diagnóstico *in vitro* – Pronto para uso

Anti-C^w Monoclonal: Para técnica em tubo, microplaca e lâmina

SUMÁRIO

O antígeno Cw é um antígeno raro do sistema de grupo sanguíneo Rh. Após sua descoberta em 1946 por Callender e Race, Cw foi considerado como um alelo no locus Cc. A frequência do antígeno varia conforme a população, com uma prevalência de 2,6% na população caucasiana. Cw é um antígeno com significado clínico e tem sido reportado como causa de Doença Hemolítica do Recém-Nascido e Reação Transfusional.

PRINCÍPIO

O reagente causa aglutinação (clumping) das hemácias teste que carregam o antígeno C^w, após centrifugação. A ausência de aglutinação geralmente indica a ausência do antígeno C^w (ver limitações).

REAGENTE

O reagente de grupo sanguíneo monoclonal Anti-C^w Lorne contém anticorpo humano monoclonal IgM, linhagem celular MS-110, diluído em um tampão fosfato contendo cloreto de sódio (0,6g%), albumina bovina (6g%) e um conservante. 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 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 no máximo 7 dias após a coleta. As amostras colhidas em ACD, CPD ou CPDA-1 podem ser testadas até 35 dias após a coleta. Amostras de sangue com evidência de hemólise podem fornecer resultados não confiáveis.

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 filtrado através de uma cápsula 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. 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.
8. Os materiais usados foram testados como negativos para HBsAg e anticorpos anti HIV1+2 e HCV com técnicas microbiológicas aprovadas.
9. 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. Antígenos Cw fracos podem não ser detectados pela técnica em lâmina. Recomenda-se que antígenos Cw fracos sejam testados usando a técnica em tubo.
3. Ao tipificar hemácias de pacientes suspeitos de possuírem auto-anticorpos ou anormalidades proteicas é necessário interpretar os resultados das aglutinações com muito cuidado.
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

- Bastões aplicadores
- Leitor de placas automático
- Centrífuga de microplaca
- Agitador de placa
- Microplacas em "U" validadas
- Lâminas de microscópio de vidro
- Tubos teste de vidro (10 x 75 mm ou 12 x 75 mm).
- 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.

TÉCNICAS RECOMENDADAS

TÉCNICA EM TUBO

1. Preparar uma suspensão a 2-5% de hemácias teste em PBS ou Solução Fisiológica 0,9%.
2. Colocar em um tubo teste identificado: 1 volume de reagente Anti-C^w Lorne e 1 volume da suspensão de hemácias teste.
3. Misturar cuidadosamente e centrifugar todos os tubos durante 20 segundos a 1000 rcf ou por um tempo e força alternativos adequados.
4. Ressuspender suavemente o botão de hemácias e examinar macroscopicamente a presença de aglutinação.

Técnica em Microplaca Usando Cavidades em "U"

1. Preparar uma suspensão a 2-5% de hemácias teste em PBS ou Solução Fisiológica 0,9%.
2. Colocar na cavidade adequada: 1 volume da suspensão de hemácias a testar e 1 volume de Reagente Anti-C^w Lorne.
3. Misturar totalmente, preferivelmente com um agitador de microplacas, tomando cuidado para evitar a contaminação cruzada entre as cavidades.
4. Incubar a temperatura ambiente por 15 minutos.
5. Centrifugar a microplaca por 1 minuto a 140rcf ou por tempo e força alternativos adequados.
6. Ressuspender o botão de hemácias suavemente 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 em tubo.

Técnica em Lâmina

1. Preparar uma suspensão de hemácias a testar a 35-45% em soro, plasma, PBS ou Solução Fisiológica 0,9%.
2. Colocar em uma lâmina de vidro marcada: 1 volume da suspensão de hemácias a testar e 1 volume de Reagente Anti-C^w Lorne.
3. Usando um bastão aplicador limpo, misturar os reagentes em uma área de cerca de 20x40mm.
4. Incliná-la vagarosamente a lâmina por 30 segundos com agitações posteriores ocasionais durante um período de 1 minuto mantendo a temperatura ambiente.
5. Ler macroscopicamente após 1 minuto em uma luz difusa e não confundir a presença de fibrina ou formação de roleux com aglutinação.
6. Qualquer reação fraca deve ser repetida pela técnica em tubo.

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 Cw 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 Cw nas hemácias teste.

ESTABILIDADE DAS REAÇÕES

1. Os tubos devem ser centrifugados e lidos imediatamente após a centrifugação. Atrasos podem resultar na dissociação dos complexos antígeno-anticorpo, levando a resultados falso-negativos ou positivos fracos.
2. Os testes em lâminas devem ser interpretados dentro de 1 minuto, para assegurar a especificidade e evitar a possibilidade de um resultado negativo ser incorretamente interpretado como positivo, devido ao ressecamento do reagente.
3. Deve-se ter cuidado na interpretação dos resultados dos ensaios realizados em temperaturas diferentes das recomendadas.

LIMITAÇÕES

1. Muitos anticorpos monoclonais humanos IgM Rhesus tem demonstrado possuir atividade para aglutininas frias Anti-I/i, particularmente com hemácias de cordão ou hemácias tratadas com enzimas. Isto pode se tornar evidente se os testes forem incubados a temperaturas abaixo da recomendada.
2. 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.
3. 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
 - Em caso de resultado duvidoso, lavar previamente as hemácias no mínimo duas vezes em tampão PBS ou Solução Fisiológica 0,9% e repetir o teste.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO ESPECÍFICAS

1. O reagente foi caracterizado pelos procedimentos mencionados nas **Técnicas Recomendadas**.
2. Antes de ser liberado, cada lote de Anti-C^w Lorne é testado pelas **Técnicas Recomendadas** contra um painel de hemácias antígeno-positivas para assegurar reatividade adequada.
3. A especificidade dos anticorpos monoclonais é determinada usando um painel de hemácias antígeno-negativas.
4. O Controle de Qualidade deste reagente foi realizado usando hemácias lavadas duas vezes com tampão PBS ou Solução Fisiológica 0,9% antes do uso.
5. O reagente está de acordo com recomendações do último artigo Guia de Transusão de Sangue de United Kingdom.

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. Technical Manual, 16th Edition, American Association of Blood Banks, Bethesda, MD, 2008; Chapter 13
2. Geoff Daniels. Essential Guide to Blood Groups, 2nd Edition. Wiley-Blackwell, 2010; Chapter 4

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-C ^w	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 Sardinha, 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