

Reagente de Hemácias Panocell® 10 tratado com ficina

Para detecção de anticorpos irregulares

- **IVD**
 - **Rx ONLY**
 - **1°C** ↘ **10°C**
 - **2-4 %**
 - **Conservantes das hemácias:** cloranfenicol (0,25 mg/mL), sulfato de neomicina (0,1 mg/mL) e sulfato de gentamicina (0,05 mg/mL).
- **Leia as instruções de uso**
- **Rejeitar se apresentar hemólise significativa**
- **Sem padrão de potência nos EUA**

⚠ ATENÇÃO: Controle de ficina e Solução conservante contém 0.1% de Azida de sódio.

ATENÇÃO: TODOS OS PRODUTOS SANGÜÍNEOS DEVEM SER TRATADOS COMO POTENCIALMENTE INFECIOSOS. A EMBALAGEM DESTA PRODUTO (TAMPA CONTA-GOTAS) CONTÉM BORRACHA NATURAL SECA. PODE CAUSAR ALERGIA.



Immucor, Inc.
3130 Gateway Drive
Norcross, GA 30071 EUA

IFU 318ptbr-14



Immucor Medizinische Diagnostik GmbH
Robert-Bosch-Strasse 32, 63303 Dreieich, Alemanha

Utilização:

O Reagente de Glóbulos Vermelhos Panocell® 10 tratado com ficina é utilizado para detecção de anticorpos irregulares de glóbulos vermelhos.

Resumo do Teste:

A ficina modifica a membrana do glóbulo vermelho destruindo ou alterando componentes selecionados da membrana ou o meio envolvente desses componentes. Como consequência, as interações entre alguns anticorpos e seus respectivos antígenos são reforçadas, enquanto outras são eliminadas. Desde finais dos anos 40, soluções de enzimas proteolíticas, como a ficina, tem sido usada em testes de sorológicos. As reações dos anticorpos dos sistemas sanguíneos Rhesus, Lewis, Kid e P são geralmente potenciadas em técnicas que utilizam glóbulos vermelhos tratados com enzimas.¹⁻⁵ Contudo, alguns anticorpos, principalmente as especificidades mais comuns encontradas dos sistemas MM e Dunfa, não reagem com glóbulos vermelhos tratados com ficina.¹⁻⁸

Panocell 10 tratado com ficina, é fabricado como enzima pré-modificada e correlaciona-se com os reagentes do mesmo número de lote do Panocell 10, não tratado. Os glóbulos vermelhos tratados com ficina são testados em paralelo ou subsequentemente aos glóbulos vermelhos não modificados.

Princípio do Teste:

O soro ou plasma é testado com os Glóbulos Vermelhos Reagentes Panocell (não tratado ou tratado com ficina). A aglutinação de um ou mais dos glóbulos vermelhos Panocell® em qualquer uma das fases, ou hemólise na fase salina ou com potencializadores, constitui um teste positivo e é o resultado de uma reação entre um antígeno e o seu respectivo anticorpo. A não existência de aglutinação ou hemólise indica ou a ausência de anticorpo, desde que os glóbulos vermelhos de teste possuam o antígeno correspondente, ou que um anticorpo, se presente, está em concentrações muito baixas para ser detectado pelas técnicas sorológicas utilizadas. No caso de glóbulos vermelhos tratados com ficina, uma reação negativa pode indicar que o anticorpo presente é direcionado contra o antígeno sensível à enzima.

Reagentes:

Panocell 10 tratado com ficina é um conjunto de 12 frascos, composto por 10 frascos de glóbulos vermelhos, um frasco de Solução de Ficina e um de Controle de Ficina. Cada frasco de glóbulos contém uma suspensão a 2-4% de glóbulos vermelhos do grupo O, de um único doador, que foram tratados com uma solução de ficina. Após a incubação com as enzimas, os glóbulos vermelhos são lavados e suspensos numa solução conservante tamponada, contendo adenosina e adenina para retardar a hemólise e/ou perda de antigenicidade durante o período de validade. São adicionados cloranfenicol (0,25 mg/mL), sulfato de neomicina (0,1 mg/mL) e sulfato de gentamicina (0,05 mg/mL) como conservantes. O diluente não interfere com a hemólise mediada pelo complemento.

Os glóbulos vermelhos reagentes tratados com ficina são fornecidos em conjuntos que incluem os reagentes Panocell correspondentes do mesmo número de lote. (Consultar as instruções de utilização que acompanha os reagentes não tratados). Os glóbulos vermelhos são os mesmos que os utilizados nos reagentes não tratados. A Master List que acompanha cada lote indica o código do doador e a composição antigênica de cada um dos glóbulos vermelhos reagentes de cada doador único, antes do tratamento com ficina.

A Solução de Ficina fornecida com o Panocell 10 tratado com ficina deve ser usada para tratar os glóbulos vermelhos de doador ou de paciente, de forma a permitir a inclusão destes como um controle autólogo, em testes de identificação, que utilizam reagentes previamente modificados com ficina. Nota: Por vezes, pode ser possível a formação de um precipitado no fundo dos frascos da Solução de Ficina, não sendo, contudo, esta observação, uma indicação de que o produto está deteriorado. É necessário a execução de um teste de controle de

Reagente de Hemácias Panocell® 10, tratado com ficina



Antes de utilizar o produto verifique se a versão desta Instrução de Uso corresponde à versão informada na embalagem do produto. Para obter as Instruções de Uso também em formato impresso, sem custo adicional, contatar o Serviço de Atendimento ao Consumidor através do SAC 0800-707-3855 ou através do e-mail contato.brasil@fresenius-kabi.com

qualidade para verificar se o mesmo está deteriorado. O Controle de Ficina (lectina de Glycine max var. soja) é utilizado para verificar se os glóbulos vermelhos autólogos foram suficientemente tratados com enzima, antes da execução do teste. Ambos os reagentes contém azida sódica (0,1% de concentração final) como conservante.

Precauções:

Para utilização em diagnóstico *in vitro*. O utilizador deve ler com atenção as instruções antes de utilizar este produto.

Não existe padrão de potência dos EUA.



ATENÇÃO:

Este reagente contém 0,1% de azida sódica. Aviso: H302 nocivo se ingerido.

A azida sódica pode reagir com ligas de cobre e chumbo e formar compostos explosivos. Se for despejada em um lavatório, jogar em seguida uma grande quantidade de água para evitar que a azida se acumule.

Armazenar entre 1-10 °C entre utilizações. Não congelar nem expor a temperaturas elevadas. Evitar a contaminação deste produto durante a utilização. Uma turvação forte pode indicar deterioração ou contaminação do reagente. Não utilize reagentes contaminados. Não utilizar após o prazo de validade. Não utilizar frascos com derramamento. Não utilizar frascos sem rótulo.

O reagente não deve ser utilizado se os glóbulos vermelhos escurecerem, aglutinarem espontaneamente ou se ocorrer hemólise significativa. Com o tempo pode ocorrer uma ligeira hemólise. Neste caso, os glóbulos vermelhos podem ser lavados e suspensos em soro fisiológico, imediatamente antes da sua utilização. Manusear e eliminar o reagente como potencialmente infeccioso.

ATENÇÃO: TODOS OS PRODUTOS DE ORIGEM SANGÜÍNEA DEVEM SER TRATADOS COMO POTENCIALMENTE INFECIOSOS. A MATÉRIA-PRIMA UTILIZADA NA FABRICAÇÃO DESTA PRODUTO OBTVE RESULTADOS NEGATIVOS QUANDO TESTADA DE ACORDO COM OS TESTES ATUALMENTE EXIGIDOS PELA FDA. NÃO EXISTEM MÉTODOS DE TESTE CONHECIDOS QUE POSSAM GARANTIR QUE PRODUTOS DERIVADOS DE SANGUE HUMANO NÃO IRÃO TRANSMITIR QUAISQUER AGENTES INFECIOSOS.

A EMBALAGEM DESTA PRODUTO (TAMPA CONTA-GOTAS) CONTÉM BORRACHA NATURAL SECA. PODE CAUSAR ALERGIA.

O formato para a data de validade é AAAA-MM-DD (ano-mês-dia).

Coleta e Preparação da Amostra:

Pode ser utilizado soro ou plasma nos procedimentos de detecção de anticorpos. Os anticoagulantes plasmáticos podem interferir com a detecção dos anticorpos complementos de ligação.⁴⁻⁶ Podem também desenvolver-se coágulos de fibrina e interferir nos testes em que se utiliza plasma.

Coletar uma amostra de sangue usando uma técnica de flebotomia correta. Os testes devem ser realizados logo que possível, para minimizar a possibilidade de ocorrência de reações falso-positivas ou falso-negativas, devido a armazenamento impróprio ou a contaminação da amostra. Amostras que não possam ser testadas de imediato, devem ser armazenadas a 1-10°C. Em alternativa, o soro ou plasma pode ser separado dos glóbulos vermelhos e congelado. Os anticorpos fracamente reativos podem deteriorar-se e tornar-se indetectáveis em amostras armazenadas à temperatura ambiente durante vários dias antes de serem

testadas ou em amostras armazenadas a 1-10 °C por períodos prolongados. Não utilizar amostras coletadas em tubos com separadores de gel neutro. Podem ocorrer resultados falso-positivos com tais amostras.

Procedimento:

Materiais Fornecidos

1. Panocell 10 tratado com ficina, contendo glóbulos vermelhos tratados e não tratados com ficina do mesmo lote fornecidos em frascos conta-gotas prontos para o uso.
2. Master List

Materiais Necessários, mas não Fornecidos

1. Amostras do doador ou paciente
2. Tubos de teste de 10 x 75 mm ou 12 x 75 mm
3. Suporte de tubos
4. Pipetas
5. Soro fisiológico isotônico não tamponado ou tamponado com fosfato (aproximadamente 15 mM),
6. pH 6,5-7,5
7. Antiglobulina Humana (poliespecífica ou anti-IgG)
8. Glóbulos de Controle de Antiglobulina (glóbulos sensibilizados com IgG) (por exemplo, Checkcell da Immucor)
9. Estufa ou banho de água a 37 °C
10. Centrífuga de tubos*
11. Cronômetro *É da responsabilidade do utilizador a validação do dispositivo (listado ou outro) para a utilização pretendida. A validação dos resultados deverá ser mantida como parte dos registos do laboratório, para revisão pelas entidades reguladoras competentes.

Métodos de Teste:

Método em Tubo

O procedimento detalhado abaixo é meramente indicativo para os procedimentos de identificação de anticorpos usando os glóbulos vermelhos pré-modificados com enzima. (Consultar o folheto informativo que acompanha o Panocell- painel de glóbulos vermelhos não tratados, para a execução de testes usando estes reagentes). Pode ser necessário modificar este procedimento para obedecer aos requisitos ou aos procedimentos operacionais padronizados do laboratório. Não é recomendado o uso de agentes potenciadores com glóbulos vermelhos pré-modificados com enzima.

1. Rotular um tubo de teste para cada reagente Panocell a ser usado e, quando for prática, um tubo adicional para o controle autólogo.*
2. Preparar glóbulos de controle autólogos tratados com ficina de acordo com o protocolo a seguir indicado. (Ver Preparação do Controle autólogo).
3. Colocar 2-3 gotas do soro ou plasma em teste em cada um dos tubos rotulados. A adição de 3 gotas pode aumentar a reatividade.
4. Inverter suavemente, várias vezes, cada frasco de glóbulos vermelhos reagentes, para obter uma completa suspensão dos glóbulos vermelhos.
5. Adicionar 1 gota de cada um dos glóbulos vermelhos reagentes a cada tubo correspondente. Se um controle autólogo é testado em paralelo, adicionar 1 gota de uma suspensão de glóbulos vermelhos a 2-4% tratados com ficina (preparados no passo 2) ao tubo correspondente.
6. Agitar completamente o conteúdo de cada tubo e incubar os tubos a 36-38°C durante 15 a 30 minutos. NOTA: Se desejável, todos os tubos podem ser centrifugados e verificada a existência de aglutinação ou hemólise, antes da incubação a 37°C.
7. Centrifugar cada tubo.** Examinar o sobrenadante para verificar a existência de hemólise. Suspender suavemente cada botão de glóbulos vermelhos e examinar a existência de aglutinação. Registrar os resultados.
8. Lavar os glóbulos vermelhos com soro fisiológico pelo menos 3 vezes, tendo o cuidado de decantar completamente depois de cada lavagem.
9. Adicionar Antiglobulina Humana a cada tubo na quantidade especificada nas instruções de uso do fabricante.
10. Misturar completamente o conteúdo de cada tubo.
11. Centrifugar cada tubo.** Ressuspender suavemente cada botão de glóbulos vermelhos e examinar macroscopicamente a existência de aglutinação. Registrar os resultados.
12. Confirmar a validade de todas as reações negativas com glóbulos vermelhos de controle de antiglobulina, sensibilizados com IgG.

Preparação do controle autólogo:

1. Diluir 0,1 mL de Solução de Ficina em 0,9 mL de soro fisiológico.
2. Adicionar 1 gota de suspensão de 2-5% de glóbulos vermelhos autólogos num tubo marcado como TESTE. Adicionar outra gota num tubo marcado como CONTROLE.
3. Adicionar uma gota de Solução de Ficina diluída a cada tubo e misturar bem o conteúdo de cada tubo.
4. Incubar os tubos a 36-38°C durante 10-15 minutos.
5. Lavar os glóbulos vermelhos com soro fisiológico pelo menos três vezes.
6. Adicionar 2 gotas de Controle de ficina ao tubo de CONTROLE. Misturar o conteúdo.
7. Centrifugar o tubo de CONTROLE.**
8. Suspender suavemente o botão de glóbulos vermelhos e verificar a existência de aglutinação. Os glóbulos vermelhos que tiverem sido tratados adequadamente com ficina devem produzir um resultado 3-4+ com o Controle de Ficina. Se forem obtidas as reações desejadas, os glóbulos vermelhos no tubo de TESTE estão prontos para serem utilizados no procedimento de identificação. Se forem obtidas reações fracas no teste de CONTROLE, repetir o procedimento de pré-modificação.

*É importante saber se um soro reage com os glóbulos vermelhos autólogos para determinar se estão presentes aloanticorpos ou autoanticorpos. Isto é particularmente importante quando os glóbulos vermelhos pré-modificados com enzima são usados para identificação de anticorpos, uma vez que os glóbulos vermelhos tratados com ficina podem reagir mais rapidamente com os autoanticorpos (particularmente o autoanti-I) do que os glóbulos vermelhos não tratados.

** Tempo de centrifugação sugerido: 15-30 segundos a 900-1000 x g ou um tempo apropriado à centrífuga utilizada, que produza a reação mais forte de anticorpo com glóbulos antigénio-positivo, permitindo, no entanto, uma suspensão fácil dos glóbulos vermelhos antigénio-negativos.

Estabilidade da Reação:

Após centrifugação, todos os testes deverão ser lidos imediatamente e os resultados interpretados sem demora. Os atrasos podem resultar na dissociação dos complexos antígeno-anticorpo, conduzindo a reações falsamente negativas ou, no máximo, a reações fracamente positivas.

Controle da Qualidade:

Para além da inspeção visual para verificar a presença de deterioração, a reatividade dos glóbulos vermelhos pode ser avaliada periodicamente testando os antígenos que se deterioram mais facilmente, tais como o Lea, com um anticorpo fracamente reativo da mesma especificidade. Se o resultado for de não reatividade, o produto não deve ser utilizado.

Interpretação dos Resultados:

Os princípios de identificação de anticorpos com glóbulos vermelhos tratados com ficina são similares aos dos testes com glóbulos vermelhos não tratados. Consultar as instruções de uso do Panocell-10, reagentes não tratados, incluído no Conjunto de Reagentes Tratados com Ficina, para discussão dos princípios básicos de identificação.

Teste positivo com os glóbulos vermelhos tratados com ficina: Aglutinação de qualquer, ou de todos os glóbulos vermelhos reagentes na fase de antiglobulina, ou aglutinação ou hemólise a 37°C.

Teste negativo utilizando glóbulos vermelhos tratados com ficina: Ausência de aglutinação ou hemólise de quaisquer glóbulos reagentes.

As reações obtidas com glóbulos vermelhos tratados com ficina podem, em alguns casos, ser diferentes das obtidas com os glóbulos vermelhos não tratados. As reações de certos anticorpos são potencializadas, enquanto de outros são diminuídas:

Anticorpos cujas reações são potencializadas por enzimas	Anti-D, -C, -c, -E, -e, -f, -Jka, -Jkb, -Lea, -Leb, -I, -IH, -Tja
Anticorpos cujas reações são diminuídas ou eliminadas	Anti -M, -N, -S, -s, -Fya, -Fyb, -Xga, -Pr, -Ch, -Rg, -JMH

Limitações:

Podem ocorrer resultados falsamente positivos ou falsamente negativos se tiver havido contaminação bacteriana ou química dos materiais de teste, temperatura ou tempo de incubação inadequados, centrifugação imprópria, lavagem deficiente dos glóbulos vermelhos, armazenamento impróprio dos materiais de teste e omissão do soro de antiglobulina ou do soro de teste.

Podem ser obtidos resultados falsamente negativos se não for utilizada uma proporção sorocélula adequada.¹¹ Esta proporção ótima de sorocélulas é muito importante nos procedimentos de pesquisa ou identificação de anticorpos. A quantidade (n.º de gotas) de soro empregue irá depender da percentagem da suspensão de glóbulos vermelhos usada, do volume de distribuição do conta-gotas e do tipo de agente potenciador utilizado.

Raramente, podem ocorrer resultados falsamente positivos na presença de anticorpos dirigidos contra componentes do diluente dos glóbulos vermelhos. Estas reações indesejáveis podem geralmente ser evitadas, através da lavagem dos glóbulos vermelhos reagentes com soro fisiológico, antes da utilização no teste.

Os autoanticorpos reativos a frio ou a quente são potenciados em testes, que usam glóbulos vermelhos pré-modificados com enzima.

A exposição prolongada dos glóbulos vermelhos do paciente ou do doador à Solução de Ficina fornecida com o Panocell 10, tratado com ficina, irá conduzir a um tratamento excessivo dos glóbulos vermelhos. Glóbulos vermelhos excessivamente tratados podem agregar-se espontaneamente, em soro ou em meio salino, tornando difícil a interpretação dos resultados.

Os glóbulos vermelhos tratados com ficina podem ser mais suscetíveis à lise por anticorpos hemolíticos (certos exemplos de anti-Vel, anti-Tja, anti-Jka, anti-Lea) do que os glóbulos vermelhos não tratados do mesmo doador.

Os glóbulos vermelhos pré-modificados com enzima utilizados como reagente único na deteção de anticorpos.

A reatividade dos Glóbulos Vermelhos Reagentes pode diminuir durante o período de validade. A taxa a que é perdida a reatividade do antígeno (ou seja, aglutinabilidade) é parcialmente dependente das características individuais do doador, que não são controladas nem previstas pelo fabricante.

Não existe nenhum método capaz de detectar todos os anticorpos irregulares.

Os glóbulos vermelhos utilizados para preparar este reagente possuem antígenos que podem não estar definidos pelo fabricante, portanto, é possível obter um padrão de reações positivas com este reagente, que não condiz com nenhum dos perfis antigénicos definidos na Master List.

Caraterísticas Específicas de Desempenho:

Antes de ser comercializado, cada lote do Reagente de Glóbulos Vermelhos da Immucor, exceto se indicação em contrário, é testado por dois laboratórios independentes que utilizam anticorpos com origem em, pelo menos, dois doadores diferentes (exceto quando impedidos

pela raridade do anticorpo), para confirmar a presença ou ausência de todos os antígenos dos grupos sanguíneos especificados na Master List. O desempenho deste produto depende da aplicação dos métodos recomendados nestas instruções de uso. Todas as suspensões de glóbulos vermelhos apresentaram um teste de antiglobulina direto negativo utilizando Antiglobulina Humana poliespecífica. Os conjuntos de glóbulos vermelhos reagentes tratados com ficina cumprem as especificações da FDA para glóbulos vermelhos reagentes utilizados na detecção de anticorpos irregulares. O prazo de validade é de 67 dias após a data de fabricação o que corresponde à primeira coleta de sangue de qualquer um dos doadores utilizados num componente do produto.

Para obter mais informações ou apoio técnico (EUA/Canadá), contate a Immucor pelo telefone 855-IMMUCOR (466-8267) ou o distribuidor local

Para obter um Certificado de Análise (CoA) ou cópia impressa do Folheto Informativo ou da Ficha de Segurança, contate o distribuidor local.

Bibliografia:

1. Giles CM. Survey of uses for ficin in blood group serology. Vox Sang 1960;5:467.
2. Steane EA, Greenwalt TJ. Erythrocyte agglutination. In: Immunobiology of the erythrocyte. New York: Alan R. Liss, 1980;171-88.
3. Ellisor SS. Action and application of enzymes in immunohematology. In: Seminar on antigen-antibody reactions revisited. Washington DC: American Association of Blood Banks, 1982;133-174.
4. Morton JA, Pickles MM. The proteolytic enzyme test for detecting incomplete antibodies. J Clin Pathol 1951;4:189-99.
5. Morton JA. Some observations on the action of blood group antibodies on red cells treated with proteolytic enzymes. Br J Haematol 1962;8:134-48.
6. Hirsch W, Moores P, Sanger R et al. Notes on some reactions of human anti-M and anti-N sera. Br J Haematol 1957;3:134-42.
7. Springer GF. Enzymatic and nonenzymatic alterations of erythrocyte surface antigens. Bacteriol Rev 1963;27:191-227.
8. Issitt PD, Jerez GC. Absorption of unwanted antibodies from sera containing MNS or Duffy group antibodies without need for selecting "appropriately negative" cells. Transfusion 1966;6:155-9.
9. Brecher ME, ed. Technical manual. 15th ed. Bethesda MD: AABB, 2005.
10. Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. Blood transfusion in clinical medicine. 9th ed. Oxford: Blackwell Scientific, 1993.
11. Beattie KM. Control of antigen-antibody ratio in antibody detection/compatibility tests. Transfusion 1980;20:277.



Código do folheto informativo: **318ptbr-14**
Rev 07/19

Descrição	Código
Panocell 10 tratado com ficina	0002385

Regularizado por:

Fresenius Hemocare Brasil Ltda.

Rua Roque Gonzáles, 128, Jd. Branca Flor,
06855-690, Itapeverica da Serra, Brasil
CNPJ: 49.601107/0001-84
Registro ANVISA: 10077090111
SAC 0800-707-3855