



SORO ANTI-D (ANTI-Rho) Monoclonal IgM + IgG combinados

REG. MS: 10159820203

EBRAM PRODUTOS LABORATORIAIS LTDA.

Rua Julio de Castilhos, 500 - Belenzinho
São Paulo - SP - Tel.: +55 11 2291 2811
CEP 03059-001 | Indústria Brasileira
CNPJ: 50.657.402/0001-31

RESPONSÁVEL TÉCNICA

Dra. Najdara Novaes Longen | CRF-SP - 37.451

Para mais informações, entrar em contato com o **SAC EBRAM**
0800 500 2424 ou ☎ 11 2574 7110
sac@ebram.com | www.ebram.com

Revisão: Julho/2022

FINALIDADE. As expressões “Rh positivo” ou Rh negativo” são baseadas na presença ou ausência do antígeno D (RH) nas hemácias. De acordo com Molinon(1) aproximadamente 15% dos caucasianos não têm o antígeno D e são normalmente estimulados pelo D(+) a produzir Anti-D na gravidez ou transfusão sanguínea. Isto pode causar a Doença Hemolítica do Recém-nascido ou severa reação hemolítica transfusional.

Depois dos antígenos do sistema de grupos sanguíneos ABO, o D é o antígeno de grupo sanguíneo mais importante na rotina do Banco de Sangue. De modo diferente do Sistema ABO, os anticorpos do Sistema Rh não ocorrem regularmente no soro mas, quase sempre são resultados da exposição ao antígeno durante a gestação ou em uma transfusão de sangue.

O termo genérico Dfraco é usado para designar células que têm diferenças quantitativas ou qualitativas das hemácias normais D(+). O componente anti-D IgM monoclonal deste reagente causará aglutinação direta das hemácias que têm antígeno D e a maioria das variantes Dfraco. O componente anti-D IgG monoclonal aglutinará as baixas expressões de Dfraco através do teste de aglutinulina indireto.

PRINCÍPIO DO TESTE. O procedimento do teste recomendado para uso dos reagentes é baseado na aglutinação das células vermelhas fracas que têm antígeno D1 na presença de anticorpo ANTI-D e detecta a categoria D das células vermelhas VI. O reagente é uma mistura de Anti-D IgM monoclonal humano derivado do clone Th28 e anti-D IgG monoclonal humano derivado do clone MS26. A presença ou a ausência do antígeno D é determinada testando as hemácias com Anti-D. A Aglutinação indica que as hemácias em teste são D positivo. A ausência de aglutinação indica que as hemácias em teste são D negativo, devendo ser testadas para “D fraco”.

Para que o resultado do teste com o Soro Anti-D seja válido é necessário realizar em paralelo um teste com o reagente Controle Rh, a fim de se detectar falsas reações positivas que podem ser causadas por rouleaux, aglutininas frias ou auto-anticorpos.

DESCRIÇÃO DO REAGENTE. Anti-D monoclonal humano IgM + IgG combinados é um reagente de baixa concentração protéica, formulado para uso em teste rápido em lâmina e em tubo. O uso deste reagente é apropriado para o método de detecção das variantes Dfraco. O reagente contém albumina bovina. Isto tem favorecido os resultados apresentados pelas técnicas recomendadas sem quaisquer diluições ou adições. O reagente contém 0,1% de azida sódica e é somente para uso no diagnóstico profissional “in vitro”. Utilizar o reagente com cuidado para manter a esterilidade dos produtos. Não utilizar os

reagentes que apresentarem turvação. Não pipetar com a boca. O produto é fornecido em frascos de 10 ml acompanhado de conta gotas.

Soro Anti-D cód. 103 líquido levemente amarelo

ARMAZENAMENTO. O reagente deve ser armazenado entre 2 - 8°C. Não congelar ou expor o produto a temperaturas elevadas.

COLETA E PREPARO DAS AMOSTRAS. Não é necessário nenhum preparo especial do paciente para a coleta da amostra. O sangue deve ser colhido com técnica asséptica, com ou sem anticoagulante e o soro separado o mais breve possível para realização dos testes.

As hemácias obtidas de coágulo podem ser tipadas em 5 dias após sangria. As amostras coletadas em EDTA ou Heparina devem ser tipadas em até 48 horas. Se a demora para a execução do teste for inevitável, hemácias de sangue coagulado e as colhidas em EDTA ou heparina devem ser separadas do soro/plasma, lavadas e ressuspensas em solução preservativa de glóbulos. Estocar a 2^o-8°C por no máximo 20 dias. O armazenamento prolongado de hemácias antes da execução do teste pode causar deterioração de antígenos e resultar em reações mais fracas.

PROCEDIMENTO PARA TESTE.

Técnica em Lâmina (efetuar ao mesmo tempo o teste com o reagente Controle Rh Ebram):

1. Preparar a suspensão de eritrócitos a 40% em solução fisiológica 0,9%.
2. Colocar uma gota do Soro Anti-D Ebram na lâmina pré-aquecida (não obrigatoriamente) em aglutinoscópico, facilitando a observação de reações fracas pelo efeito de iluminação e contraste
3. Adicionar 1 gota da suspensão de eritrócitos.
4. Misturar o reagente com a suspensão em uma área de 2 x 2 cm.
5. Movimentar gentilmente a lâmina para promover a mistura e examinar a presença ou não de aglutinação.
6. Os testes que não apresentarem aglutinação, deverão ser observados aos 2 minutos. Não interpretar secagem periférica como aglutinação.
7. Se o resultado for negativo executar os procedimentos da Técnica para detecção das formas fracas do antígeno D.

Técnica em Tubo:

1. Preparar uma suspensão a 3 - 5% das hemácias a serem testadas, em solução fisiológica 0,9%.
2. Colocar uma gota do Soro Anti-D Ebram em um tubo devidamente identificado. Em um segundo tubo (controle negativo) colocar uma gota do reagente Controle Rh Ebram

3. Acrescentar uma gota da suspensão nos tubos do soro Anti D e no tubo do Controle Rh Ebram. Misture bem o conteúdo
4. Centrifugar por 20 segundos a 3000 rpm
5. Examinar a ausência de hemólise e ressuspender o botão de hemácias, agitando delicadamente o tubo, observando a presença ou não de aglutinação.
6. Graduar e registrar os resultados
7. Se o teste for negativo ou duvidoso, incubar a 37°C por 15 minutos, homogeneizar, centrifugar e verificar a presença ou não de aglutinação novamente.
8. Em caso de resultado negativo, proceder a realização de teste para D fraco a partir do item 4 da técnica para detecção de antígeno D fraco.

Obs: A calibração adequada das centrifugas são imprescindível para a garantia da qualidade dos resultados.

Técnica para detecção de antígeno D fraco

1. Preparar uma suspensão a 3 - 5% das hemácias a serem testadas, em solução fisiológica 0,9%
2. Colocar uma gota do Soro Anti-D Ebram em um tubo devidamente identificado. Em um segundo tubo (controle negativo) colocar uma gota do reagente Controle Rh Ebram
3. Acrescentar uma gota da suspensão nos tubos do soro Anti D e no tubo do Controle Rh Ebram. Misture bem o conteúdo
4. Incubar os tubos por 15 minutos à 37°C ± 1°C
5. Lavar as hemácias dos tubos 3 vezes com solução fisiológica 0,9% e após a última lavagem remover completamente a salina
6. Adicionar 2 gotas do Soro Anti-Humano Ebram para cada tubo. Misturar bem.
7. Centrifugar por 20 segundos a 3000 rpm
8. Examinar a ausência de hemólise e ressuspender o botão de hemácias, agitando delicadamente o tubo, observando a presença ou não de aglutinação.
9. Graduar e registrar os resultados.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS.

POSITIVO: Excluindo-se as limitações do teste, a aglutinação dos eritrócitos pelo reagente indica presença de antígeno D.

NEGATIVO: Excluindo-se as limitações do teste, a ausência de aglutinação dos eritrócitos pelo reagente indica ausência de antígeno D.

A tabela seguinte fornece a interpretação dos resultados:

Anti-D	Controle Rh	Pesquisa do Antígeno D fraco	Fator Rh
+	-	Não testado	Positivo
-	-	+	Positivo
-	-	-	Negativo
+ ou -	+	Teste inválido - Analisar se o procedimento realizado está de acordo com as instruções	

LIMITAÇÕES DO TESTE. A reatividade das hemácias humanas D positivas podem variar bastante. Certos indivíduos D positivo possuem pequena quantidade de sítios D de tal forma que não serão evidenciados pelas técnicas de

classificação utilizando reagentes Anti-D Monoclonais. Assim, certos reagentes Anti-D não detectam um antígeno D de baixa expressão de alguns indivíduos. O reagente de origem monoclonal IgG + IgM tem precisamente a propriedade de melhora a detecção destes antígenos D de baixa expressão. Fenótipos D muito fracos tais como D parciais, particularmente os de categorias IV e VI podem, eventualmente, não ser detectados pela técnica direta.

- As hemácias com teste de antiglobulina direta positiva terão a pesquisa das formas fracas do antígeno D prejudicada. Tratando-se de sangue de doador, o mesmo não deverá ser utilizado para fins transfusionais.
- Resultados falso-positivo ou reações fracamente positivas podem ocorrer com amostras de sangue de subgrupos A e B ou após estocagem prolongada.
- Variáveis relativas ao procedimento técnico, tais como: técnica, suspensões muito concentradas ou diluídas, centrifugações ou incubações inadequadas, amostra e salina contaminadas ou vidraria suja podem causar falsas reações positivas ou negativas.

GARANTIA. Este produto é garantido pela Ebram Produtos Laboratoriais Ltda se conservado na temperatura recomendada, utilizado durante o prazo de validade e seguindo recomendações do rótulo e dessa instrução de uso.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.

1. Widmann F.K. ed Technical Manual 9th Edition Washington D.C. American Association of Blood Banks 1985 Chapter 8.
2. Race R.R. and Sanger R. Blood Groups in Man 6th Edition Oxford Blackwell Scientific Publications 1975.
3. Issitt P.D. Applied Blood Group Serology 3rd Edition Montgomery Scientific publications Miami, Florida USA 1985.
4. Walker Rh, ed. Technical manual. 11th editin. Bethesda: AABB, 1993.
5. Mollison PL. Blood Transfusion in clinical medicine. 7th editidion. Oxford: Blackwell Scientific, 1983.
6. Guidelines for the Blood Transfusion Servie H.M.S.O.

SÍMBOLOS UNIVERSAIS UTILIZADOS EM EMBALAGENS DE DIAGNÓSTICO IN VITRO

	CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO		REAGENTE		FABRICADO POR
	O CONTEÚDO É SUFICIENTE PARA <N> TESTES		DATA DE VALIDADE (ÚLTIMO DIA DO MCS)		NÚMERO DO LOTE
	LIMITE DE TEMPERATURA (CONSERVAR A)		PRODUTO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO		NÚMERO DO CATÁLOGO