

## Família De Reagentes De Hemácias Para Imunohematologia

### REAGENTE DE GLÓBULOS VERMELHOS HUMANOS PARA IDENTIFICAÇÃO DE ANTICORPOS HOMOGENEIZAR BEM ANTES DE USAR



#### Instrução de Uso: 212110100/14

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



Reagente para uso em diagnóstico *in vitro*.

#### APRESENTAÇÃO

Painel de Hemácias	12 x 3 mL
--------------------	-----------

#### INTRODUÇÃO

PAINEL DE HEMÁCIAS é apresentado em 12 frascos contendo cada um deles 3 ml de suspensão de hemácias humanas a 3%, selecionadas de doadores individuais adultos do grupo O.

Foi realizada a fenotipagem estendida para antígenos de diferentes sistemas de grupos sanguíneos e sua composição cuidadosamente programada, lote a lote, de forma a possibilitar identificação de anticorpos irregulares de significado clínico transfusional e obstétrico.

Cada lote deste reagente é acompanhado de um diagrama específico onde é demonstrada a composição dos antígenos presentes em cada célula, bem como o modo usual de reação dos anticorpos irregulares contra os antígenos representados.

Os glóbulos de PAINEL DE HEMÁCIAS são conservados em uma modificação de solução de Alsever que contém EDTA como anticoagulante e aminoácidos destinados à preservação da integridade dos antígenos da membrana eritrocitária.

PAINEL DE HEMÁCIAS contém sulfato de neomicina a 1:10000 e cloranfenicol a 1:3000 para prevenir contaminação bacteriana. Mesmo assim, manuseie-o com cuidado, evitando contaminação grosseira do reagente.

#### FINALIDADE DE USO

PAINEL DE HEMÁCIAS pode ser utilizado nas seguintes situações:

- A. Para a identificação de anticorpos irregulares encontrados em:
  1. Doadores de sangue;
  2. Receptores de sangue;
  3. Pacientes pré-cirúrgicos;
  4. Gestantes em pré-natal;
  5. Doença hemolítica perinatal;
  6. Eluatos de células de cordão umbilical;
  7. Soros e eluatos de células de pacientes com Anemia Hemolítica Autoimune.
- B. Como glóbulos controle (positivo e negativo) na fenotipagem de amostras desconhecidas.

#### PRINCÍPIO DO TESTE

O princípio do teste do reagente Painel de Hemácias se baseia na análise da reação antígeno e anticorpo, detectada através da observação da presença ou ausência da hemaglutinação.

A aglutinação dos glóbulos vermelhos deste kit, com o soro do paciente ou equivalente indica uma reação positiva.

#### LIMITAÇÃO DO REAGENTE

O reagente Painel de Hemácias destina-se apenas a identificação de anticorpos irregulares presentes no material doado.

#### MODO DE USO:

##### CONDIÇÕES PARA COLETA, MANUSEIO, PREPARO E PRESERVAÇÃO DE AMOSTRAS

Não há necessidade de qualquer preparação prévia do paciente ou doador para a coleta do material. O sangue deve ser coletado através de técnica asséptica com anticoagulante (EDTA, heparina, citrato, ACD, CPD ou CPDA-1). Os resultados dos testes são mais bem evidenciados com a utilização de amostras de sangue recentemente coletadas. A contaminação bacteriana da amostra pode causar falsos resultados.

#### PROCEDIMENTO DE ENSAIO

##### Reagentes Fornecidos

- Painel de Hemácias.

##### Reagentes adicionais não fornecidos:

- Solução fisiológica;
- TRIACEL® para detecção de Anticorpos;
- Antiglobulina Humana (Soro de Coombs® ou Soro Anti-Humano Blend®);
- Células controle de Coombs (Controcel®);
- Albumina Bovina a 22%, Bio PeG® ou Red Ion® para aumentar a reatividade do anticorpo e/ou diminuir o tempo de incubação;

##### Outros materiais e equipamentos necessários

- Tubos de ensaio (10 x 75 mm ou 12 x 75 mm);

- Pipetas Pasteur;
- Banho-Maria;
- Timer;
- Centrífuga imuno-hematológica;
- Auxílio óptico.

#### **MÉTODO DE TESTE**

A especificidade do(s) anticorpo(s) pode ser determinada testando-se o soro contra as hemácias do PAINEL DE HEMÁCIAS.

A execução do teste deve ser feita de acordo com a triagem do soro efetuada com o TRIACEL<sup>®</sup>, levando em consideração o meio, o tempo de incubação e a temperatura em que se detectou o(s) anticorpo(s).

Os resultados obtidos em cada fase devem ser anotados com a graduação da intensidade de aglutinação, para facilitar a identificação do anticorpo.

#### **PAINEL A QUENTE**

##### **Meio Salino - Temperatura Ambiente**

Esta etapa visa detectar anticorpos salinos (aglutininas salinas da classe IgM das imunoglobulinas) reativos em temperatura ambiente (20°C a 25°C).

1. Ressuspender os glóbulos vermelhos do PAINEL DE HEMÁCIAS invertendo os frascos pelo menos 10 vezes.

NÃO HOMOGENEIZAR POR MEIO DE AGITAÇÃO.

2. Em uma estante, distribuir e identificar 12 tubos de ensaio (12 x 75 mm ou 10 x 75 mm).
3. Adicionar 2 gotas\* do soro teste contendo o anticorpo a ser identificado a cada um dos tubos.
4. Adicionar ao tubo nº 1 uma gota\* de suspensão a 3% do frasco nº 1 do PAINEL DE HEMÁCIAS; ao tubo nº 2, uma gota\* de suspensão a 3% do frasco nº 2 do PAINEL DE HEMÁCIAS e assim sucessivamente até o 12º tubo. Homogeneizar bem.
5. Centrifugar todos os tubos durante 15 segundos a 3.400 rpm (900 - 1000g) ou durante 1 minuto a 1.000 rpm (100 - 125g).
6. Ressuspender delicadamente o "botão" de hemácias em cada tubo, observando a presença ou não de hemólise e/ou aglutinação.
7. Graduar a intensidade das reações positivas e 1 a 4 cruzes em cada tubo e anotar os resultados na folha do diagrama de antígenos.

##### **Meio Proteico - Temperatura Ambiente**

Esta etapa visa detectar anticorpos salinos (IgM) que tem suas reações intensificadas em meio proteico e anticorpos incompletos albuminosos mais potentes (anticorpos da classe IgG das imunoglobulinas).

8. Adicionar a todos os tubos 2 gotas\* de ALBUMINA BOVINA a 22%. Homogeneizar bem.
9. Centrifugar todos os tubos durante 15 segundos a 3.400 rpm (900 - 1000g) ou durante 1 minuto a 1.000 rpm (100-125g).
10. Ressuspender delicadamente o "botão" de hemácias em cada tubo, observando a presença ou não de hemólise e/ou aglutinação. Graduar a intensidade das reações positivas de 1 a 4 cruzes em cada tubo e anotar os resultados na folha do diagrama de antígenos.

##### **Meio Proteico - Temperatura de 37° C**

Esta etapa visa detectar anticorpos incompletos albuminosos reativos a 37°C, como os anticorpos do sistema Rh-Hr.

11. Incubar todos os tubos em banho-maria a 37°C durante 15 a 60 minutos.
12. Centrifugar todos os tubos durante 15 segundos a 3.400 rpm (900 - 1000g) ou durante 1 minuto a 1.000 rpm (100 - 125g).
13. Ressuspender delicadamente o "botão" de hemácias em cada tubo, observando a presença ou não de hemólise e/ou aglutinação. Graduar a intensidade das reações positivas de 1 a 4 cruzes em cada tubo e anotar os resultados na folha de diagrama de antígenos.

##### **Teste com potencializadores**

A ALBUMINA BOVINA a 22% pode ser substituída com vantagem na identificação dos anticorpos de natureza IgG clinicamente significativos, pelo RED ION<sup>®</sup> ou Bio PeG<sup>®</sup>, conforme indicações de uso descritas nas instruções de uso destes reagentes.

Alertamos apenas que o tempo de incubação a 37°C com estes reagentes deve ser rigorosamente obedecido, não superando o tempo recomendado.

A leitura para visualização da aglutinação com estes reagentes poderá ser dispensada, seguindo-se imediatamente para a fase da Antiglobulina Humana.

##### **Teste da Antiglobulina Humana (COOMBS INDIRETO)**

Esta etapa visa detectar anticorpos incompletos reativos pelo Teste de Coombs Indireto (anticorpos da classe IgG das imunoglobulinas e anticorpos fixadores de componentes do complemento à membrana celular).

14. Lavar o conteúdo dos 12 tubos com solução fisiológica por 3 vezes consecutivas. Decantar completamente a solução fisiológica após a última lavagem.
15. Adicionar a cada um dos 12 tubos 2 gotas\* de SORO ANTI-HUMANO Blend ou SORO DE COOMBS. Homogeneizar bem.
16. Centrifugar todos os tubos durante 15 segundos a 3.400 rpm (900 - 1000g) ou durante 1 minuto a 1.000 rpm (100 - 125g).
17. Ressuspender delicadamente o "botão" de hemácias em cada tubo observando a presença ou não de aglutinação. Graduar a intensidade das reações positivas de 1 a 4 cruzes em cada tubo e anotar os resultados na folha do diagrama de antígenos.
18. Adicionar a cada um dos tubos onde não se observou reação de aglutinação, 1 gota\* de CONTROCEL<sup>®</sup> como controle de qualidade da técnica de lavagem e da atividade do SORO ANTI-HUMANO Blend ou SORO DE COOMBS (vide instruções de uso do CONTROCEL<sup>®</sup>).

#### **PAINEL A FRIO**

Este método visa detectar anticorpos salinos frios (aglutininas salinas da classe IgM das imunoglobulinas) reativos entre 15°C e 18°C.

1. Ressuspender os glóbulos vermelhos do PAINEL DE HEMÁCIAS, invertendo os frascos pelo menos 10 vezes.

NÃO HOMOGENEIZAR POR MEIO DE AGITAÇÃO.

2. Executar os itens 2, 3 e 4 do método para Painel à Quente.
3. Incubar todos os tubos em banho de gelo durante 30 minutos em temperatura entre 15°C e 18°C.
4. Centrifugar todos os tubos durante 15 segundos a 3400 rpm (900 - 1000g) ou 1 minuto a 1000 rpm (100 - 125g).
5. Ressuspender delicadamente o "botão" de hemácias em cada tubo, observando a presença ou não de aglutinação. Graduar a intensidade das reações positivas de 1 a 4 cruzes em cada tubo e anotar os resultados na folha do diagrama de antígenos.

\* 1 gota = aproximadamente 50 microlitros.

## INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

A identificação do(s) anticorpo(s) presente(s) no soro é efetuada utilizando-se do diagrama de antígenos que acompanha o PAINEL DE HEMÁCIAS, através de comparações dos resultados obtidos no teste, com a presença e ausência do antígeno no diagrama.

Este diagrama contém a composição antigênica de cada célula onde (+) representa a presença do antígeno especificado na superfície de glóbulos vermelhos e (0) a sua ausência, bem como o modo usual de reações dos anticorpos irregulares contra os antígenos representados. A presença de reação positiva no autocontrole em qualquer fase de identificação pode indicar existência de uma anormalidade no soro do paciente que deverá ser resolvida antes da interpretação do teste, ou pode indicar a presença de autoanticorpo.

NOTA: A eficácia dos reagentes está diretamente relacionada às condições de armazenamento e uso. Recomendamos a realização do controle de qualidade no recebimento do reagente e frente às condições adversas.

## RECOMENDAÇÕES E ADVERTÊNCIAS

1. Lavar muito bem os glóbulos vermelhos antes da adição do SORO ANTI-HUMANO Blend ou SORO DE COOMBS®, desmanchando bem o "botão" de hemácias antes da adição da solução salina fisiológica em cada lavagem. A proteína residual do soro pode neutralizar estes reagentes, resultando teste falso negativo. Usar o CONTROCEL® em todos os tubos em que ocorreram resultados negativos (vide Instruções de Uso do CONTROCEL®).
2. A leitura do teste deve ser efetuada deslocando e ressuspensando delicadamente o "botão" de hemácias. Uma agitação vigorosa pode causar uma leitura negativa de anticorpos de reação fraca ou de baixo título.
3. A centrifuga deve estar calibrada. O tempo e a centrifugação devem ser os mínimos necessários para formar um "botão" de hemácias com sobrenadante límpido.
4. Evitar a utilização de amostra de soro com contaminação bacteriana grosseira, pois podem ocorrer reações inespecíficas.
5. Como acontece com todos os reagentes de glóbulos vermelhos humanos, a reatividade pode diminuir no decorrer do prazo de validade. Não utilizar após o prazo de validade.
6. Não utilizar após o prazo de validade indicado no rótulo.
7. Armazenar entre 2°C a 8°C entre as utilizações. NÃO CONGELAR;
8. O produto deve ser manuseado com cuidado, de forma a evitar a contaminação do reagente.
9. O produto foi fabricado a partir de sangue de doadores negativos para os vírus da hepatite B, hepatite C, Anti-HTLV-I e Anti-HIV 1+2, entretanto, a manipulação deve ser efetuada com os cuidados apropriados, garantindo a segurança dos usuários.
10. A embalagem deste produto (tampa conta-gotas) pode conter látex de borracha natural. Pode causar alergia.
11. Não utilizar se os reagentes estiverem turvos

## FATORES QUE PODEM LEVAR A FALSOS RESULTADOS

1. Amostras de sangue mais antigas, podem levar a resultados mais fracos que os obtidos com as amostras de coleta recente;
2. Grau de hemólise da amostra;
3. Contaminação das amostras, reagentes e/ou outros materiais utilizados na técnica;
4. Concentração da suspensão de hemácias diferente da recomendada no preparo da amostra;
5. Tempo e/ou temperatura de incubação inadequados;
6. Centrifugação excessiva pode dificultar a ressuspensão do "botão" de hemácias;
7. Centrifugação inadequada (tempo de centrifugação ou rotação abaixo do recomendado) pode levar a um "botão" que se dispersa com facilidade;
8. A ressuspensão das hemácias no fundo do tubo, após centrifugação, deve ser delicada. Agitação muito vigorosa pode dispersar os aglutinados formados, podendo levar a resultados falso-negativos;
9. O não seguimento das instruções de uso.

**Atenção:** Contém azida sódica como preservante em uma concentração final de 0,1% 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.

## DESCARTE

Seguir os regulamentos locais para descarte e gerenciamento de resíduos de serviços de saúde, bem como outras práticas de biossegurança equivalentes em vigor.

## GARANTIA











O usuário é responsável pelo desempenho dos reagentes quando utiliza técnicas não recomendadas. Qualquer desvio das técnicas recomendadas nestas instruções de uso deve ser validado antes do uso.

As instruções de uso recomendadas neste folheto devem ser rigorosamente cumpridas. A confiabilidade dos resultados do ensaio não poderá ser garantida em caso de desvio às instruções e as condições de conservação recomendadas nos rótulos.

## BIBLIOGRAFIA

1. Technical Manual, American Association of Blood Bank, 14 Ed., 2002.
2. Carvalho, William de Freitas, Técnicas Médicas de Hematologia e Imunohematologia, 7 Ed. Ed. Médica, 1999.
3. Issitt D. Peter, Anstee J. David, Applied Blood Group Serology, 14 Ed., 1998.
4. Judd J. W, Methods in Imunohematology, 2 Ed, 1994.
5. Harmening Denise, Calhoun Loni, Poleshy Herbert, Técnicas Modernas para Banco de Sangue, 2 Ed., Revinter 1992.

## SÍMBOLOS UTILIZADOS NA EMBALAGEM DO PRODUTO

	Consultar instruções de uso		Data de Validade		Este Lado para cima
	Armazenar entre 2°C e 8°C		Número do lote		Pode conter látex de borracha natural
	Reagente diagnóstico para uso "in vitro"		Número de referência		Identificação única do dispositivo
	Fabricante				



**Fresenius HemoCare Brasil Ltda.**  
Rua Roque Gonzáles, n.º 128 - Jardim Branca Flor  
Itapeverica da Serra - São Paulo - Brasil  
CEP: 06855-690  
CNPJ: 49.601.107/0001-84  
Registro ANVISA: 10154450145

SAC: 0800-707-3855  
©Marca Registrada  
Indústria Brasileira