



INVITROCLONE

Anti-C (RH2), Anti-c (RH4), Anti-E (RH3), Anti-e (RH5)

Anticorpos Monoclonais para Tipagem Sanguínea em Lâmina, Tubo e Microplacas

INTRODUÇÃO

Os antígenos correntes Rh são codificados por dois genes homólogos: *RHD* e *RHCE*. O gene *RHD* produz a proteína RhD que carrega o antígeno D (RH1) e o gene *RHCE* produz a proteína RhCE que carrega os antígenos C (RH2), c (RH4), E (RH3), e (RH5).

Cerca de 85% da população caucasiana é D (RH1) positiva e 15% é D (RH1) negativa. Em relação aos antígenos presentes na proteína RhCE, as frequências são aproximadamente:

C (RH2) 70%
c (RH4) 80%
E (RH3) 30%
e (RH5) 98%

REAGENTES



Os INVITROCLONE Anti-C (clone MS-273), Anti-c (clone MS-35), Anti-E (clones MS-12 + MS-260) e Anti-e (clones MS-62 + MS-69) são reagentes prontos para uso, com anticorpos e classe IgM, preparados a partir de sobrenadantes de culturas celulares de linfócitos B modificados pelo EBV. Cada lote do reagente é submetido a rigoroso controle de qualidade em vários estágios da

produção, para avidéz, especificidade e desempenho.

Conservante: < 0,1% NaN3.



Estabilidade: ver prazo de validade no rótulo do frasco.

MATERIAIS E REAGENTES ADICIONAIS NECESSÁRIOS

- Tubos de suspensão (12x75 mm)
- Pipetas Pasteur
- Suporte para tubos
- Lâminas de vidro
- Bastões de mistura
- Microplacas de fundo em U
- Incubadora 37° C
- Centrífuga imuno-hematológica
- Aglutinoscópio
- Solução salina isotônica para suspensão de hemácias

PRINCÍPIO

Hemácias humanas portando os antígenos C (RH2), c (RH4), E (RH3), e (RH5) aglutinarão na presença de anticorpos dirigidos aos respectivos antígenos. Aglutinação de hemácias em suspensão com os INVITROCLONE Anti-C (RH2), Anti-c (RH4), Anti-E (RH3) e Anti-e (RH5) indica a presença dos respectivos antígenos e a ausência de aglutinação indica ausência dos antígenos.

OBSERVAÇÕES

1. Reagente laboratorial de uso exclusivo para diagnóstico "in vitro".
2. Contém azida sódica 0,1% como preservativo, portanto, tóxico se ingerido.

3. Forte turbidez pode indicar contaminação bacteriana ou desnaturação térmica do reagente. Nestes casos, descartar o reagente.

COLETA DE AMOSTRA

1. Não requer preparação prévia do paciente para coleta de amostra de sangue.
2. Amostras podem ser coletadas com anticoagulantes: citrato, EDTA, heparina ou CPD-A ou sem anticoagulante.
3. Resultados ideais são obtidos se as provas forem realizadas com amostras recentes.
4. Se os testes não forem realizados imediatamente após a coleta, estocar amostras entre 2-8 °C.
5. Não usar amostras hemolisadas ou contaminadas.

Amostras com anticoagulante devem ser testadas de acordo com seguintes critérios:

| | |
|-----------------------------|---------|
| EDTA ou Heparina | 2 dias |
| Citrato ou Oxalato de sódio | 14 dias |
| ACD ou CPD-A | 28 dias |

PROCEDIMENTO

Teste em lâmina

1. Todos os materiais e reagentes deverão estar em T.A. antes do uso.
2. Pipetar 1 gota (50µL) de INVITROCLONE Anti-C (RH2), Anti-c (RH4), Anti-E (RH3) e Anti-e (RH5) em lâminas de vidro, devidamente identificadas.
3. Adicionar 1 gota (50µL) de sangue total em cada lâmina.
4. Com auxílio de um bastão, misturar uniformemente o soro e o sangue total numa área de cerca de 2,5 cm².

5. Verificar macroscopicamente sinais de aglutinação sobre uma fonte de luz indireta, homogeneizando a mistura por rotações da lâmina. As reações devem ser interpretadas ao final de 2 minutos.

Teste em tubo

1. Todos os materiais e reagentes deverão estar em T.A. antes do uso.
2. Preparar uma suspensão de hemácias a 3% em solução salina isotônica.
3. Pipetar 1 gota (50µL) de INVITROCLONE Anti-C (RH2), Anti-c (RH4), Anti-E (RH3) e Anti-e (RH5) em tubos-teste identificados.
4. Adicionar 1 gota (50µL) da suspensão de hemácias a 3% nos tubos-teste e homogeneizar bem.
5. Incubação por 5 minutos em 37 °C melhora a detecção de antígenos fracos.
6. Centrifugar por 1 minuto a 125 g (1000 rpm) ou de acordo com protocolo estabelecido para a centrifuga em uso.
7. Ressuspender suavemente o botão de células no fundo do tubo e verificar macroscopicamente sinais de aglutinação sobre uma fonte de luz indireta.

Teste em Microplaca

1. Todos os materiais e reagentes deverão estar em T.A. antes do uso.
2. Preparar uma suspensão de hemácias a 2-3% em solução salina isotônica.
3. Pipetar 1 gota (50µL) de INVITROCLONE Anti-C (RH2), Anti-c (RH4), Anti-E (RH3) e Anti-e (RH5) nos microtubos de uma microplaca devidamente identificada com número ou nome da amostra e os antígenos a serem detectados.

4. Adicionar 1 gota (50µL) da suspensão de hemácias a 2-3% nos microtubos e homogeneizar bem.
5. Incubação por 15 minutos em T.A. melhora a detecção de antígenos fracos.
6. Centrifugar por 1 minuto a 125 g (1000 rpm) ou de acordo com protocolo estabelecido para a centrifuga em uso.
7. Ressuspender suavemente o botão de células no fundo dos microtubos e verificar macroscopicamente sinais de aglutinação sobre uma fonte de luz indireta.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Testes em Lâmina, Tubo e Microplaca

Reação positiva (+ a ++++) indica a presença do antígeno pesquisado.

Reação negativa (sem aglutinação) indica a ausência do antígeno pesquisado.

OBSERVAÇÕES

1. Baixa centrifugação ou centrifugação excessiva podem produzir resultados errados.
2. Os equipamentos devem ser regularmente verificados em conformidade com os procedimentos de BPL.
3. Controles positivos e negativos devem ser incluídos como recomendados pelos procedimentos de BPL.
4. Após o uso, os reagentes devem ser imediatamente estocados entre 2-8 °C.
5. Reações falso-positivas podem ser produzidas pela presença de aglutininas frias.

REFERENCIAS

1. Technical Manual of the American Association of Blood Banks, 17th edition, 2011.

2. Human Blood Groups, second edition, Geoff Daniels, Blackwell Science LTD, 2002.
3. Mollison P. L., Engelfried C. P., and Contreras, M.: Blood Transfusion in Clinical Medicine. 10th ed. 1997; Blackwell Scientific Publications, Oxford.
4. Kohler C. & Milstein C. (1975), Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature, 256, 495-497.

APRESENTAÇÕES

INVITROCLONE

| | | |
|--------------|-----------|----------------------|
| Anti-C (RH2) | 1 x 5 ml | cod. IH.001.20.03 |
| | 10 x 5 ml | cod. IH.001.20.03-10 |
| Anti-c (RH4) | 1 x 5 ml | cod. IH.001.20.04 |
| | 10 x 5 ml | cod. IH.001.20.04-10 |
| Anti-E (RH3) | 1 x 5 ml | cod. IH.001.20.05 |
| | 10 x 5 ml | cod. IH.001.20.05-10 |
| Anti-e (RH5) | 1 x 5 ml | cod. IH.001.20.06 |
| | 10 x 5 ml | cod. IH.001.20.06-10 |

Estes produtos são garantidos quanto ao seu comportamento funcional, tal como descrito no rótulo e no folheto informativo. O fabricante declina toda a responsabilidade decorrente da utilização ou venda destes produtos para fins diferentes dos aqui descritos.



Scan Diagnóstica Ltda – ImunoScan
Rua Governador Valadares, 108
São José da Lapa – MG - Brasil
CNPJ: 18.520.715/0001-30
SAC: (31) 3486-2107

MS: 81034870006

RT: Dr. Múcio Figueiredo Vieira - CRF MG - 6731
Ver. 03/2019