

FMH RapidScreen

Para detecção de eritrócitos D-Positivo em mães D-Negativo

- **IVD**
 - **Rx ONLY**
 - **10°C**
 - **Não Congelar**
 - **Rejeitar se apresentar hemólise significativa**
 - Sem padrão de potência nos EUA
 - **!** O reagente contém 0,1% de azida sódica.
- Itens do Kit:
Reagente Anti-D
Células indicadoras
Controle positivo
Controle negativo
- Conservantes das hemácias: cloranfenicol (0,25 mg/mL), sulfato de neomicina (0,1 mg/mL) e sulfato de gentamicina (0,05 mg/mL)

ATENÇÃO: TODOS OS PRODUTOS SANGÜÍNEOS DEVEM SER TRATADOS COMO POTENCIALMENTE INFECCIOSOS. A EMBALAGEM DESTA PRODUTO (TAMPA CONTA-GOTAS) CONTÉM BORRACHA NATURAL SECA. NÃO PIPETAR O PRODUTO USANDO A BOCA. A AUSÊNCIA DE VÍRUS DE MURINOS NÃO FOI DETERMINADA.



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



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

IFU 3047ptbr-3

Utilização:

Para detecção de eritrócitos D-positivo em mães D-negativo

O *FMH RapidScreen* destina-se a utilização na detecção de eritrócitos D-positivo em mães D-negativo.

Sumário do Teste:

A imunização Rh na gravidez resulta, na maior parte dos casos, do fato de, no parto, um volume variável de sangue fetal entrar na circulação sanguínea materna quando a placenta se separa da parede uterina. Em indivíduos suscetíveis, este acontecimento pode dar origem à produção de aloanticorpos maternos dirigidos a antígenos presentes nos eritrócitos do feto, mas ausentes nos da mãe. Na maioria dos casos, as mães D-negativo de recém-nascidos D-positivo podem ser protegidas da produção de anti-D mediante a administração de imunoglobulina Rh no espaço de 72 horas após o parto. Uma hemorragia feto-materna grave pode constituir uma das causas da falha de profilaxia. *Pollack et al* calcularam que a dose padrão de 300µg de imunoglobulina Rh é suficiente para suprimir a imunização Rh, desde que não se verifique a entrada de mais de 15 ml de glóbulos vermelhos fetais (equivalente a 30 ml de sangue total) na circulação sanguínea materna.¹ Assim, têm sido aplicados vários procedimentos laboratoriais para quantificar o volume de hemorragia feto-materna em mulheres D-negativo pós-parto para determinar quando é necessária uma dose superior à dose padrão de 300µg de imunoglobulina Rh para garantir proteção. Um teste para detectar uma hemorragia feto-materna de proporções superiores às que são abrangidas pela dose padrão de 300µg de imunoglobulina Rh constitui um requisito da AABB *Standards*.²

Os métodos com base no método da eluição ácida de *Kleihauer, Braun e Betke* utilizam a resistência da hemoglobina fetal (hemoglobina F) para a eluição num tampão ácido, permitindo o reconhecimento e a contagem de glóbulos vermelhos fetais por exame microscópico.³ Para obviar às desvantagens inerentes do método, foram propostas duas técnicas sorológicas com base num procedimento de ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) como um meio mais objetivo de detectar e quantificar percentagens reduzidas de glóbulos vermelhos D-positivo em sangue D-negativo.^{4,5}

Para minimizar a necessidade de realizar um procedimento quantitativo em todos os casos, foi proposto um teste de triagem sorológico mais sensível por *Sebring e Polesky*, que aplica o princípio de formação imunológica de rosetas.^{6,7}

Princípio do Teste:

Uma suspensão de glóbulos vermelhos de uma mãe D-negativo é, em primeiro lugar, incubada durante **5 minutos à temperatura ambiente** com o reagente anti-D e, em seguida, lavada para remover todos os anticorpos não ligados. É adicionada uma suspensão fraca de glóbulos vermelhos D-positivo. A mistura de glóbulos vermelhos é centrifugada e é examinada ao microscópio para detecção de aglutinação mista. Dado que uma pequena população de glóbulos vermelhos D-positivo é revestida com anti-D durante a fase de incubação, as células indicadoras de D-positivo adicionadas após a lavagem formam rosetas em torno das células individuais da pequena população, originando aglutinações maiores e mais facilmente detectáveis. Na maioria dos casos, a hemorragia feto-maternal não é suficiente para originar um resultado de teste positivo, mas, nos casos em que houve entrada de um volume significativo de sangue fetal na circulação sanguínea materna, o teste fornece uma indicação de que é necessário um teste quantitativo para determinar se a hemorragia foi suficiente para garantir a administração de uma dose maior de imunoglobulina Rh à mãe.

Legenda:

Sublinhado = adição ou alteração significativa; ▲ = eliminação de texto

FMH RapidScreen

Para detecção de eritrócitos D-positivo em mães D-negativo



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 fresenius.br@fresenius-kabi.com

Reagentes:

Reagente Anti-D: contém anticorpos monoclonais IgM anti-D do heterohibridoma humano/murino⁸ da linhagem celular GAMA401 crescidos numa cultura líquida e devidamente diluídos num diluente que contém albumina bovina para alcançar o nível apropriado de potência para o procedimento de teste tal como descrito. A albumina bovina utilizada na fabricação deste produto tem origem em animais dadores dos EUA, que foram inspecionados e certificados por inspetores dos serviços de inspeção e segurança alimentar do Departamento de Agricultura dos EUA (*USDA Food Safety and Inspection Service*) como sendo saudáveis. Considera-se que este produto de origem ruminante tem um baixo risco de transmissão de encefalopatia espongiforme transmissível (EET). Contém 0,1% de azida sódica como conservante.

Células indicadoras: uma suspensão de, aproximadamente, 0,5% de glóbulos vermelhos do grupo O, obtidos a partir de um doador com o fenótipo DcEe (R2r).

Controle positivo: uma suspensão de 2 a 4% de glóbulos vermelhos compreendendo, aproximadamente, 99,4% de células D-negativo do grupo O e, aproximadamente, 0,6% de células D-positivo do grupo O, obtidas a partir de um doador com expressão heterozigótica do antígeno D.

Controle negativo: uma suspensão de 2 a 4% de glóbulos vermelhos D-negativo do grupo O.

Todos os glóbulos vermelhos são submetidos a lavagem para remoção de anticorpos do grupo sanguíneo e suspensos novamente numa solução tamponada à qual foram adicionados sulfato de neomicina (0,1 mg/ml), cloranfenicol (0,25 mg/ml) e sulfato de gentamicina (0,05 mg/ml) como conservantes. Os componentes do kit podem ser permutados entre lotes, desde que se encontrem dentro do prazo de validade.

Precauções:

Para utilização em diagnóstico *in vitro*. Não existe padrão de potência para os EUA. Armazenar a 1-10°C entre utilizações. Deverão ser tomadas precauções no sentido de minimizar a contaminação durante a utilização.

Não congelar

Não Congelar. Este reagente é para ser utilizado conforme fornecido. Não diluir. Não utilizar após o prazo de validade.

Rejeitar se apresentar hemólise significativa

Uma hemólise e/ou escurecimento acentuados das células indicam deterioração do produto. Devem ser tomadas precauções para minimizar a contaminação e prevenir a evaporação durante a utilização deste produto. Suspenda novamente com suavidade as suspensões de células antes da utilização. As Células indicadoras devem ser bem misturadas antes da utilização.

ATENÇÃO: não pipete este produto antissoro com a boca, pois a ausência de vírus murinos não foi determinada.

O Reagente Anti-D não deve ser utilizado para tipagem de glóbulos vermelhos para o antígeno D.

Não utilizar se apresentar turvação acentuada



O Reagente Anti-D contém 0,1% de azida sódica. Aviso: H302 Nocivo por ingestão. Aviso: a azida sódica pode reagir com ligas de chumbo e cobre e formar azidas metálicas altamente explosivas. Se for despejada para um lavatório, deite, em seguida, uma grande quantidade de água para evitar que a azida se acumule.

ATENÇÃO: TODOS OS PRODUTOS SANGÜÍNEOS DEVEM SER TRATADOS COMO POTENCIALMENTE INFECIOSOS. A EMBALAGEM DESTES PRODUTOS (TAMPA CONTA-GOTAS) CONTÉM BORRACHA NATURAL SECA. NÃO PIPETAR O PRODUTO USANDO A BOCA. A AUSÊNCIA DE VÍRUS DE MURINOS NÃO FOI DETERMINADA

ATENÇÃO: A MATÉRIA-PRIMA PARA A FABRICAÇÃO DESTES PRODUTOS OBTVE RESULTADOS NEGATIVOS QUANDO TESTADA DE ACORDO COM OS TESTES ATUALMENTE EXIGIDOS PELA FDA. NÃO É CONHECIDO NENHUM MÉTODO DE TESTE QUE POSSA GARANTIR QUE OS PRODUTOS DERIVADOS DE SANGUE HUMANO NÃO TRANSMITAM AGENTES INFECIOSOS.

Manusear e inutilizar o reagente como potencialmente infeccioso.

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

Coleta e preparação da amostra

Não é necessária qualquer preparação especial do paciente para a coleta da amostra. O procedimento de teste requer uma amostra de sangue coletada da MÃE após o parto, incluindo todos os produtos da natalidade. Recomenda-se que aguarde cerca de uma hora após o parto para permitir que o sangue fetal se misture completamente na circulação sanguínea materna, período após o qual a amostra deve ser coletada o mais rapidamente possível.⁹ A amostra sanguínea deve ser coletada por uma técnica asséptica em EDTA. Se ocorrer um atraso na realização dos testes, a amostra deve ser armazenada entre 1°C e 10°C. A contaminação bacteriana da amostra pode produzir resultados de teste falsos. O sangue coletado em EDTA não deve ser armazenado por mais de dois dias, devendo o teste ser realizado assim que possível, para permitir a administração de Imunoglobulina Rh no espaço de 72 horas após o parto. Não utilize amostras excessivamente hemolisadas para o teste.

Procedimento:

Materiais Fornecidos:

FMH RapidScreen.

Outros Materiais Necessários:

1. Tubos de ensaio (recomenda-se tubos de 12 × 75 mm).
2. Pipetas.
3. Lâminas para microscópio.
4. Solução salina isotônica, preferencialmente solução salina tamponada com fosfato (aproximadamente, 15 mm), pH 6,5 a 7,5
5. Cronômetro.
6. Centrífuga.
7. Microscópio.

Método de Teste:

1. Preparar uma suspensão de 2 a 4% dos glóbulos vermelhos maternos bem misturados a serem testados em solução salina isotônica.
2. Colocar 1 gota da suspensão preparada de glóbulos vermelhos maternos num tubo de ensaio devidamente rotulado.
3. Adicionar uma gota do Reagente Anti-D. Nota: os passos 2 e 3 podem ser invertidos, se desejado.
4. Misturar bem e incubar durante 5 minutos (\pm 1 minuto) à temperatura ambiente (18°C a 30°C).
5. Lavar os glóbulos vermelhos quatro vezes com os tubos cheios de solução salina, tendo o cuidado de decantar a solução completamente entre lavagens e de suspender de novo os glóbulos vermelhos completamente, ao adicionar solução salina para a próxima lavagem. Nota: podem ser necessárias mais do que quatro lavagens se o teste for realizado num tubo de ensaio menor do que o recomendado.
6. Decantar completamente a solução salina após a última lavagem.
7. Adicionar uma gota de Células indicadoras e misture bem, agitando suavemente o tubo.
8. Centrifugar imediatamente durante:
 - (a) 15 segundos a 3400 rpm (900 a 1000 fcr) ou
 - (b) um tempo adequado à calibração da centrífuga.
9. Suspender novamente o botão de glóbulos vermelhos completamente e examinar cinco (5) campos de baixa potência ao microscópio para detecção de aglutinação mista, utilizando uma ampliação de, aproximadamente, 100 ×. Nota: o exame microscópico pode ser realizado num tubo ou numa lâmina de microscópio. Se forem observados aglutinados no tubo, o conteúdo deve ser transferido para uma lâmina de microscópio de modo a que o número de aglutinados por cada campo de baixa potência possa ser avaliado.

Estabilidade de Reação:

Os resultados de controle e do teste devem ser interpretados de imediato após a conclusão do teste.

Legenda:

Sublinhado = adição ou alteração significativa; ▲ = eliminação de texto

Controle de Qualidade

Em paralelo com cada lote de teste (ou com cada teste, se realizados individualmente), recomenda-se a aplicação da totalidade do procedimento de teste às células de controle positivo e negativo fornecidas.

O teste de controle positivo com a mistura fornecida de glóbulos vermelhos D-negativo e D-positivo confirma a reatividade das células indicadoras e indica que o teste foi realizado corretamente. O controle positivo deve demonstrar uma reação positiva (cinco ou mais aglutinados por cinco campos de baixa potência). O teste de controle negativo é necessário para assegurar que o procedimento de lavagem utilizado foi suficiente para remover a totalidade de anti-D não ligado. A presença de aglutinados no teste de controle negativo sugere que as células indicadoras estão a ser aglutinadas por anti-D não ligado remanescente no tubo e pode indicar que o procedimento de lavagem atual não é suficiente, sendo necessários passos de lavagem adicionais. Para ser considerado válido, o teste de controle negativo deve demonstrar uma reação negativa (quatro ou menos aglutinados por cinco campos de baixa potência).

Interpretação dos Resultados:

Teste positivo: se após examinar cinco campos de baixa potência, forem observados cinco ou mais aglutinados de glóbulos vermelhos, o resultado do teste é positivo e indica a presença de glóbulos vermelhos fetais D-positivo em quantidades possivelmente significativas no sangue materno.

Teste negativo: se após examinar cinco campos de baixa potência, forem observados quatro ou menos aglutinados de glóbulos vermelhos, o resultado do teste é negativo, o que indica que não ocorreu uma hemorragia feto-materna de grandes dimensões.

O número de aglutinados observados pode ser influenciado por diversas variáveis em termos do desempenho do procedimento de teste e não deve ser utilizado como meio de quantificação da hemorragia feto-materna. Um teste positivo fornece apenas evidências da possibilidade de ter ocorrido uma hemorragia feto-materna de grandes dimensões. É necessário um teste quantitativo para determinar o volume da hemorragia feto-materna como meio de estimar a dosagem de Imunoglobulina Rh necessária para prevenir a imunização Rh. Os autores citados por *Mollison, Engelfriet e Contreras* estimaram ser previsível que 0,3% das mulheres que realizaram parto recentemente possui 10 ml ou mais de glóbulos vermelhos fetais na sua circulação sanguínea e que 1% das mulheres pode possuir 3 ml ou mais no momento do parto.¹⁰ A cesariana e a remoção manual da placenta estão associadas a um aumento significativo do número de células fetais que conseguem entrar na circulação sanguínea materna.

Limitações:

Como em todos os testes sorológicos, fatores como materiais contaminados, tempo de incubação, temperatura, centrifugação, exame de aglutinação inadequados e desvios no procedimento de teste recomendado podem dar origem a resultados de teste falsos. Adicionalmente:

1. Para uma interpretação correta dos resultados do teste, o teste deve ser realizado no sangue de uma mãe confirmada como D-negativo de um recém-nascido D-positivo. Se os glóbulos vermelhos do recém-nascido possuem um antígeno D fraco ou antígeno D parcial, o teste pode não detectar uma hemorragia feto-materna superior a 30 ml de sangue total. Quando o antígeno D nos glóbulos vermelhos do recém-nascido requer um teste de D fraco para detecção, recomenda-se um teste para detectar hemorragia feto-materna com base na hemoglobina fetal. Se a mãe é D-positivo, incluindo D fraco, uma aglutinação acentuada não fornece informações sobre a dimensão da hemorragia feto-materna. Se o recém-nascido é D-negativo, prevê-se a ocorrência de um resultado de teste negativo, independentemente do volume da hemorragia feto-materna.
2. Em casos de incompatibilidade ABO entre a mãe e a criança, os anticorpos ABO naturais da mãe podem destruir quaisquer células fetais na amostra de sangue materno antes de o teste ser realizado. Esta consideração é verdadeira para qualquer método de detecção de células fetais no sangue materno.
3. A realização incorreta das fases de lavagem do procedimento de teste pode produzir um resultado de teste falso-positivo devido à aglutinação das células indicadoras induzida por anti-D livre remanescente no sistema de teste.
4. Pode ocorrer um resultado de teste falso-positivo se os glóbulos vermelhos maternos produzirem um resultado de teste de antiglobulina direto positivo devido a um autoanticorpo capaz de reagir com as células indicadoras.
5. Um resultado de teste positivo não proporciona, por si só, qualquer evidência de que é necessário um aumento na dose de Imunoglobulina Rh para proteger a mãe da produção de anti-D, constituindo antes uma mera indicação de que pode ter ocorrido uma hemorragia feto-materna superior ao normal. Para a determinação do volume de hemorragia feto-materna, é necessário um procedimento quantitativo.
6. A reatividade dos glóbulos vermelhos pode diminuir durante o período de validade.
7. Não utilize amostras excessivamente hemolisadas para o teste.

Características Específicas de Desempenho:

O *FMH RapidScreen*, se realizado estritamente de acordo com o procedimento de teste recomendado, detecta hemorragia feto-materna quando 30 ml ou mais de sangue fetal D-positivo compatível com ABO entrou na circulação sanguínea materna. Dependendo do cuidado na realização do teste, pode obter-se um resultado positivo quando a dimensão da hemorragia feto-materna é inferior a 30 ml, embora o teste seja concebido para produzir um resultado negativo quando, como na maioria dos casos, a dimensão da hemorragia fetal é reduzida (p. ex., inferior a 2 ml de sangue total). Todas as suspensões de glóbulos vermelhos

são testadas e determinadas para produzir um resultado de teste de antiglobulina direto negativo.

O desempenho do *FMH RapidScreen* foi comparado ao Teste de triagem de hemorragia fetal em 547 amostras (186 amostras artificiais e 361 amostras clínicas). Os resultados são resumidos na tabela seguinte.

		Teste de triagem de Hemorragia Materna Fetal (FHM)		
		Positivo	Negativo	Total
<i>FMH RapidScreen</i>	Positivo	150	1	151
	Negativo	9	387	396
	Total	159	388	547

Concordância de % positiva = 94,3% (limite inferior de confiança unilateral 95% = 90,3%)

Concordância de % negativa = 99,7% (limite inferior de confiança unilateral 95% = 98,8%)

Concordância de % global = 98,2% (limite inferior de confiança unilateral 95% = 96,9 %)

Foi realizada uma análise de subgrupo dos dados clínicos acima indicados em 130 amostras artificiais com uma hemorragia feto-materna de 20 ml ou superior e comparado o desempenho do *FMH RapidScreen* com o Teste de triagem de hemorragia fetal. Os resultados são resumidos na tabela seguinte.

		Teste de triagem de Hemorragia Materna Fetal (FHM)		
		Positivo	Negativo	Total
<i>FMH RapidScreen</i>	Positivo	126	0	126
	Negativo	1	3	4
	Total	127	3	130

Concordância de % positiva = 99,2% (limite inferior de confiança unilateral 95% = 96,5%)

O desempenho deste produto depende da aplicação dos métodos recomendados neste folheto informativo. Para a obtenção de mais informações ou apoio técnico, contate a Immucor pelo telefone 855-IMMUCOR (466-8267).

Bibliografia:

1. Pollack W, Ascari WO, Kochesky RJ, O'Connor RR, Hoy TY, Tripodi D. Studies on Rh prophylaxis: 1. Relationship between doses of anti-Rh and size of antigenic stimulus. *Transfusion* 1971; 11:333-359.
2. Standards for blood banks and transfusion services. 27th ed. Bethesda 2011; AABB.
3. Kleihauer E, Braun H, Betke K. Demonstration von fetalem Hämoglobin in den Erythrozyten eines Blutaustriches. *Klin Wschr* 1957; 35:637.
4. Riley JZ, Ness PM, Teddie SJ, Barasso C, Baldwin M. The detection and quantitation of fetal-maternal bleed using an enzyme linked immunoabsorbant assay (ELISA). (Abstract.) *Transfusion* 1980; 20:640.
5. Reppun T, McIlravy D, Sherman LK. Enzyme linked immunosorbent microtiter assay for red cell serology. (Abstract.) *Transfusion* 1980; 20:641.
6. Polesky HF, Sebring ES. Detection of fetal maternal hemorrhage: An evaluation of serological tests related to Rho (D) Immune Globulin. *Transfusion* 1971; 11:162-165.
7. Polesky HF, Sebring ES. Evaluation of methods for detection and quantitation of fetal cells and their effect on Rhlg usage. *Am J Clin Path* 1981; 76:525-529.
8. Thompson KM, Melamed MD, Eagle K, et al. Production of human IgG and IgM antibodies with anti-D (rhesus) specificity using heterohybridomas. *Immunology* 1986; 58:157-160.
9. Judd WJ, Luban NLC, Ness PM, et al. Prenatal and perinatal immunohematology: recommendations for serologic management of the fetus, newborn infant, and obstetric patient. *Transfusion* 1990; 30:175-183.
10. Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. Blood transfusion in clinical medicine. 9th ed. Oxford; Blackwell Scientific Publications 1992:551-552.



Código do folheto informativo: 3047ptbr-3
Rev 3/17

Registrado e Distribuído no Brasil por:

Fresenius Hemocare Brasil Ltda.

Rua Roque Gonzáles, 128, Jd. Branca Flor,

06855-690, Itapeverica da Serra, Brasil

CNPJ: 49.601107/0001-84

Responsável Técnica: Mary M. Yamauchi - CRF/SP 13.956

Registro ANVISA: 10154450208

SAC 0800-707-3855

Legenda:

Sublinhado = adição ou alteração significativa; ▲ = eliminação de texto