

Bio-Rad Laboratórios – Brasil

*As multífaces do DTT
um reagente e muitas
utilidades*

BIO-RAD



1 Tratamento das hemácias para desnaturar antígenos eritrocitários com DTT 0,2M.....04

- 1.1 - Como preparar o DTT 0,2M?.....05
- 1.2 - Como realizar o tratamento das hemácias com DTT 0,2M?.....06
- 1.3 - Como realizar o controle de qualidade das hemácias após o tratamento com DTT 0,2M?.....07
- 1.4 - Em quais técnicas imuno-hematológicas podemos utilizar o DTT 0,2M?.....08
- 1.5 - Como utilizar hemácias tratadas com DTT 0,2M para retirar a interferência do imunoterápico Daratumumabe?.....08
- 1.6 - O que é o ZZAP?.....10

2 Tratamento para dispersar interferência de autoanticorpos IgM (ligados a membrana eritrocitária ou dispersos no soro)..... 13

- 2.1 - Mas como preparar o DTT 0,01M?.....14
- 2.2 - Tratamento para dispersar interferência de autoanticorpos IgM dispersos no soro15
- 2.3 - Técnica para Tratamento para dispersar interferência de autoanticorpos IgM ligados a membrana eritrocitária.....15

3 Quem é o ZZAP?.....19



As multifaces do DTT: Um reagente e muitas utilidades

Quem é o tal “DTT”?

O Ditionitrito (DTT) é um reagente tiol que possui múltiplas aplicações em testes utilizados na rotina do Laboratório de Imuno-hematologia. Esse reagente tem a capacidade de romper a ligação das pontes dissulfeto entre resíduos de aminoácidos necessários para manter a conformação estrutural de algumas proteínas e as ligações que mantêm uma molécula de IgM na formação pentamérica.

Mas como e quando usá-lo?

O DTT é um reagente multi-versátil! Como veremos a seguir, podemos tratar o soro e a hemácia de um indivíduo que apresente anticorpos! Então, vai depender do alvo da sua investigação imuno-hematológica e também da concentração que esse reagente foi preparado.

O DTT quando preparado na concentração 0,2M pode:

- Desnaturar ou modificar certos antígenos de grupos sanguíneos eritrocitários, em particular, aqueles nos sistemas Kell, Lutheran, YT, JMH, LW, Cromer, Indian, Dombrock e Knops e, assim, impedir o reconhecimento pelos anticorpos correspondentes.
- Também destrói a proteína CD38 presente nas hemácias, permitindo que hemácias tratadas com DTT sejam usadas em testes onde se quer mitigar a interferência de preparações terapêuticas (imunoterápicos) contendo anti-CD38.

Isto é possível porque o DTT é um agente redutor eficiente, que rompe a estrutura terciária de proteínas, reduzindo irreversivelmente as ligações dissulfeto. Desfeita a estrutura terciária, os antígenos presentes em determinadas proteínas não conseguem mais se ligar aos anticorpos correspondentes.

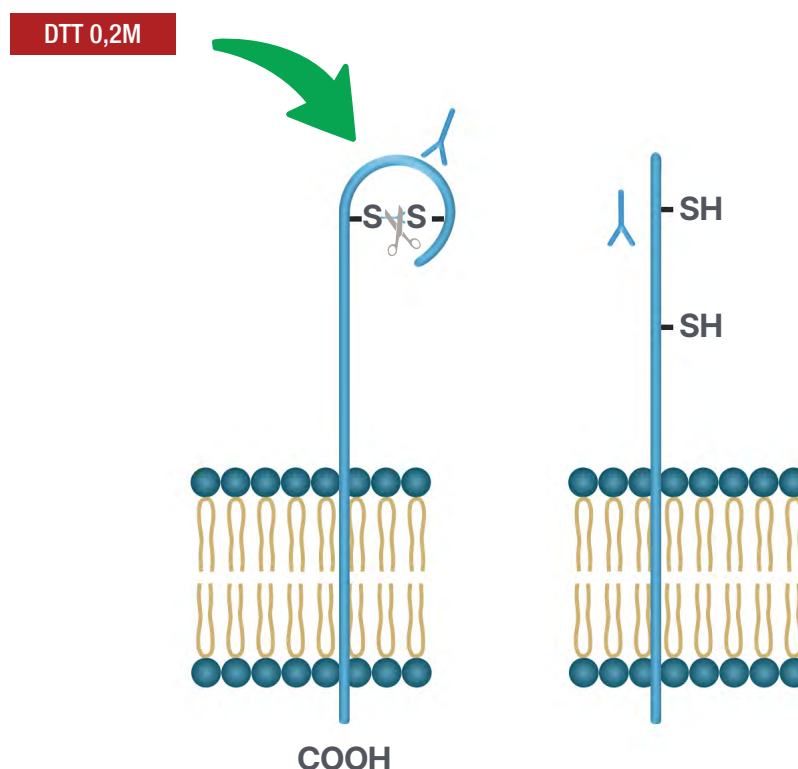


Diagrama representativo de uma proteína da membrana eritrocitária tratada com DTT. O reagente rompe as ligações dissulfeto (S-S) da proteína, modificando assim a configuração do antígeno



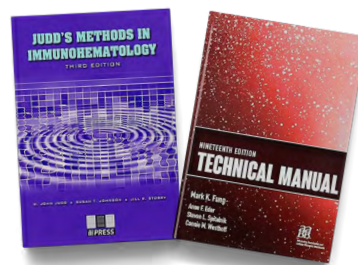
1g DTT



32 mL PBS



DTT 0,2M

Guidelines internacionais
Vide referências

Podemos também preparar o regente utilizando o ID-Diluent 2 da Bio-Rad, conforme validação realizada pelo Laboratório de Atendimento ao Cliente da Bio-Rad (LAC):



1g DTT



32 mL



Armazenamento: Congelar alíquotas de 2,5 mL a -25°C.



Como realizar o tratamento das hemácias com DTT 0,2M?

Destruição
de Antígenos

Tratamento de hemácia por DTT 0,2M

Hemácias
fenotipadas



Lavar **1 volume**
do concentrado de
hemácias 3X com salina

OU

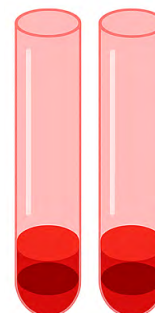


Adicionar
4 Volumes
de DTT 0,2M



Incubar 30-45 min
a 37°C

Homogenizar a
cada 10 min



Centrifugar,
desprezar o DTT
lavar 3X com salina
e 1X ID-Diluent 2



IMUNO-HEMATOLOGIA
UNIVERSIDADE BIO-RAD

Observação

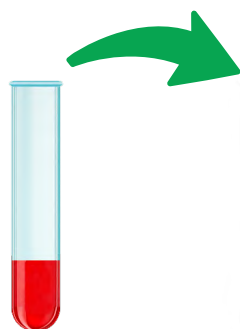
Durante a lavagem das hemácias tratadas pode ocorrer hemólise. Para evitá-la, retire o sobrenadante cuidadosamente com pipeta, adicione a salina para realizar as próximas lavagens e proceda a homogeneização suavemente, também com uma pipeta.

A utilização de hemácias com maior tempo de coleta também pode favorecer com que esta hemólise ocorra durante a fase de lavagem.

1.3



Como realizar o controle de qualidade das hemácias após o tratamento com DTT 0,2M?



Preparar a suspensão de hemácia a 1% em ID-Diluent 2



Fenotipar a hemácia para antígeno destruído pelo DTT: K, k, Kp^b... espera-se resultado negativo

200 mM DDT	Possível especificidade
+	ABO, H, RH, P1, Le, Jk, MNS, U, Fy, Fy3, Di, Co, Ge3, Ok ^a , li, P, At ^a , Cs ^a , Emm, Er ^a , Jr ^a , Lan, Sd ^a , PEL, MAM, Ge, Xg ^a , Ch/Rg, Kx, SC, PP1Pk; EnaFR, FORS; LKE, PX2; ABTi; AnWi;
0	Kell, LW, In, JMH, Do, Knops, Yt, CD38
+ / W	Cromer, Knops, Lu, Do, AnWi, Raph,
W / 0	Yt, Lu, MER2
+ / 0	Vel

Interpretação

- Se a fenotipagem das hemácias-controle não resultarem negativas quando testadas com os antissoros específicos (por exemplo, hemácia será fenotipada com anti-K): isto demonstra que o tratamento foi inadequado.
- O tratamento de hemácias com DTT 0,2 M desnaturará/ enfraquecerá todos os antígenos dos sistemas KEL, YT, LW, DO e KN.
- Concentrações mais baixas de DTT podem desnaturar seletivamente antígenos de grupos sanguíneos específicos: DTT na concentração 0,002 M desnaturará apenas os antígenos Js^a e Js^b, enquanto outros antígenos KEL não serão afetados. Essa propriedade pode auxiliar nas investigações destes anticorpos.
- DTT na concentração 0,002M desnaturará apenas os antígenos Js^a e Js^b, enquanto outros antígenos KEL não serão afetados. Essa propriedade pode auxiliar nas investigações destes anticorpos.

1.4



Em quais técnicas imuno-hematológicas podemos utilizar o DTT 0,2M?

0,2
M
O
L
A
R

Adsorção

- Autoadsorção
- Aloadsorção

Destruição de Antígenos

- Investigação de anticorpo direcionado a antígeno de alta frequência
- Eliminação da interferência do Daratumumab (Anti-CD38)

Fenotipagem eritrocitária

- Dissociação de IgG, IgM e complemento (Como componente do ZZAP)

1.5

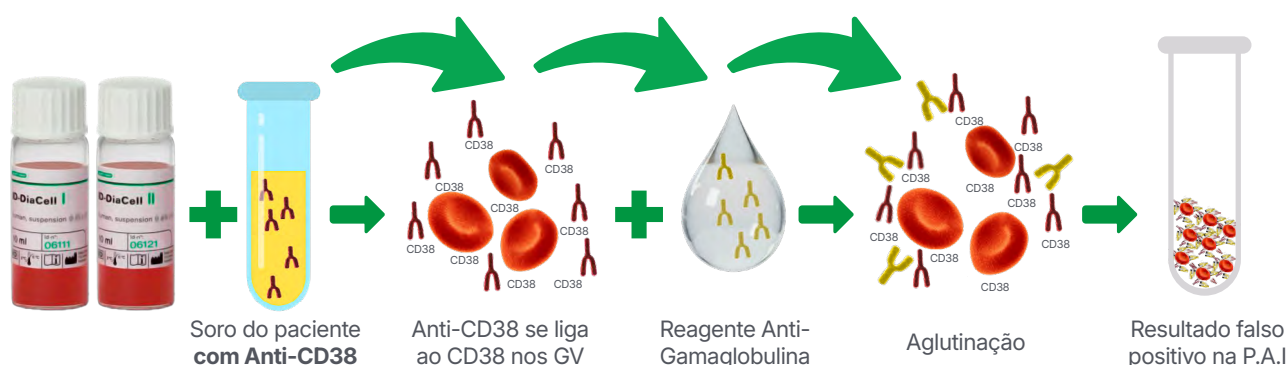


Como utilizar hemácias tratadas com DTT 0,2M para retirar a interferência do Daratumumabe?

As terapias com anticorpos monoclonais são usadas para tratar uma variedade de condições patológicas, incluindo cânceres sólidos e hematológicos. O Daratumumabe, um anticorpo monoclonal **anti-CD38 IgG1**, tem sido usado há vários anos e tem se mostrado eficiente para o tratamento de pacientes com mieloma múltiplo.

- **Glicoproteína CD38:** é uma proteína multifuncional que possui função enzimática e de receptor celular, sendo expressa em tecidos linfoides e não linfoides. Nos eritrócitos, esta proteína apresenta níveis de expressões variáveis, sendo que não é expressa somente nos eritrócitos do cordão umbilical e no fenótipo raro do sistema sanguíneo Lutheran Lu (a-b-).
- **Anti-CD38:** A administração do anticorpo monoclonal humano IgG1 kappa anti-CD38 (Daratumumabe) é atualmente tratamento de resgate e, em alguns casos, de primeira linha para tratar o Mieloma Múltiplo (MM). Este anticorpo monoclonal tem como alvo específico o antígeno CD38, que é super-expresso em células de mieloma múltiplo, mas em quantidades variáveis nos glóbulos vermelhos.

- **Interferência nos testes imuno-hematológicos:** Então, quando um doente é tratado com Daratumumabe, são observadas panreatividades nos testes imuno-hematológicos como pesquisa (triagem) e identificação de anticorpos irregulares (painel de hemácias), assim como nas provas cruzadas, em fase de antiglobulina humana, utilizando-se quaisquer meios (como salina, PEG, albumina ou LISS), e em quaisquer metodologias (seja tubos de ensaio, gel-teste ou fase sólida). Isto ocorre pois o anti-CD38 reconhece esta proteína também presente nas membranas eritrocitárias.
- **Ação do DTT:** O ditioneitol (DTT) quebra eficazmente as ligações dissulfeto, rompendo os sítios de ligação antigênica da molécula CD38 nas hemácias. As células tratadas com DTT são um reagente valioso usado para avaliar a produção de aloanticorpos “mascarados” no soro de pacientes submetidos a tratamento anti-CD38



Desenho esquemático mostrando a interferência do Daratumumabe na Pesquisa de Anticorpos irregulares.

1.6 Quem é o ZZAP ?

O DTT diluído a 0,2M pode também ser utilizado associado à enzima papaína, compondo o reagente conhecido como ZZAP, que atua na dissociação de anticorpos e frações de complemento adsorvidos às hemácias (TAD+).

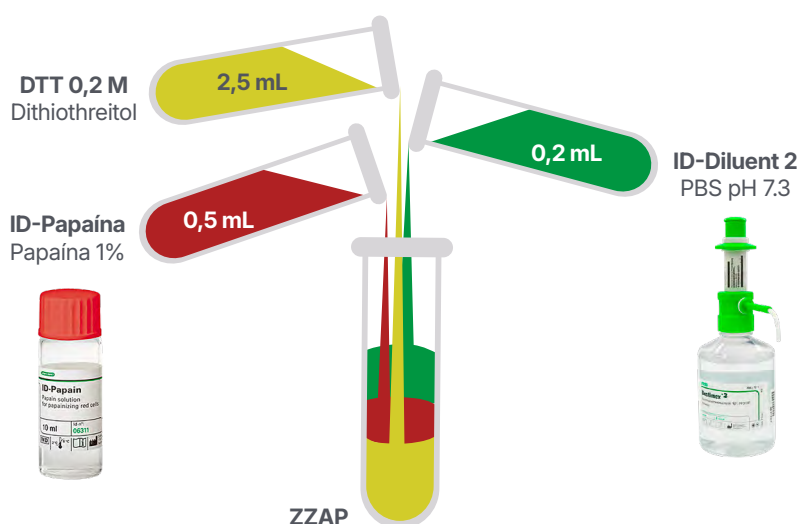
Para saber mais sobre esse reagente, não deixe de ler a nossa História em Quadrinhos-Edição Especial "Quem é o ZZAP? – Uma História Original".

O tratamento de hemácias com ZZAP é o método mais eficiente para remover anticorpos de classes IgG e/ou IgM associados a frações de complemento que estão fixados às membranas eritrocitárias.

Após o tratamento dessas hemácias com ZZAP poderemos utilizá-las para realizar procedimentos de Autoadsorção a quente, e também torna possível a fenotipagem eritrocitária especialmente para antígenos dos Sistemas Rh e Kidd (já que o DTT + papaína desnaturam alguns outros antígenos).

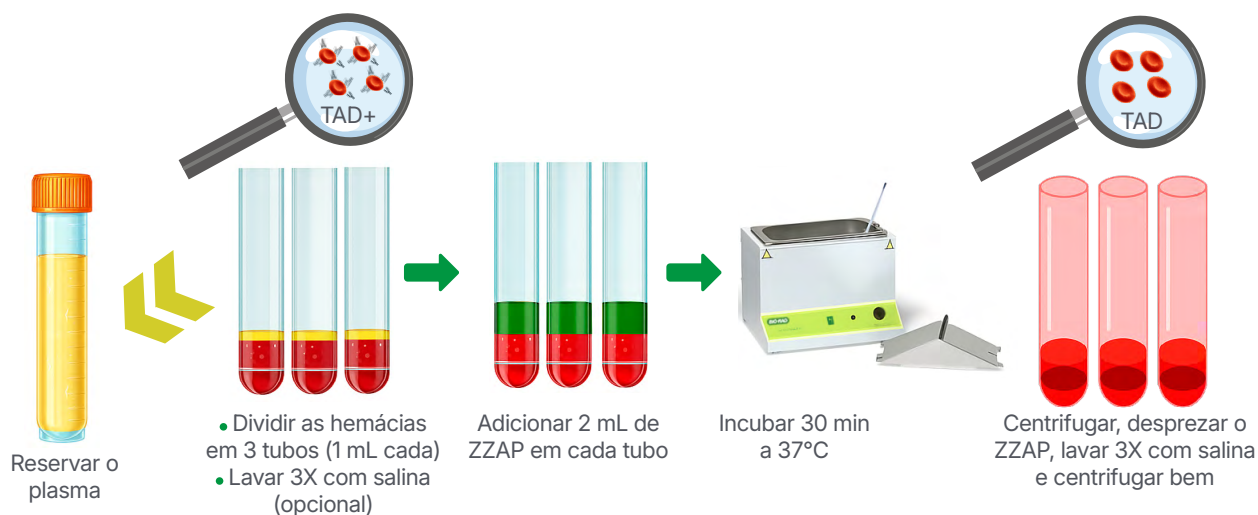
Devido a capacidade de desnaturar antígenos do Sistema Kell, o ZZAP também pode criar artificialmente hemácias KOKO ("Kell nulo"), propiciando a identificação de aloanticorpos adicionais em soros que contém um anticorpo para antígeno de alta frequência do Sistema Kell

Como preparar o ZZAP?



A solução de ZZAP é estável por 24 horas, se acondicionada sob refrigeração entre 2-8°C.

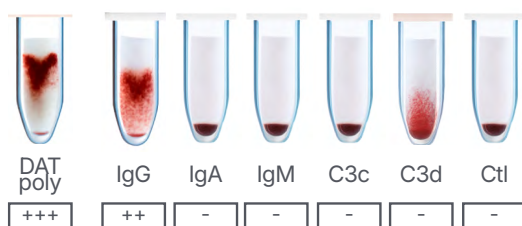
Como tratar as hemácias do paciente para autoadsorção?



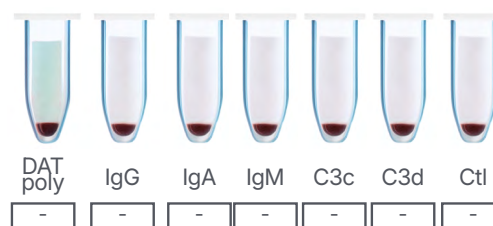
Desenho esquemático: recomenda-se utilizar a quantidade de alíquotas necessárias, dependendo da característica de cada amostra a ser estudada.

Como verificar a eficácia do tratamento das hemácias por ZZAP?

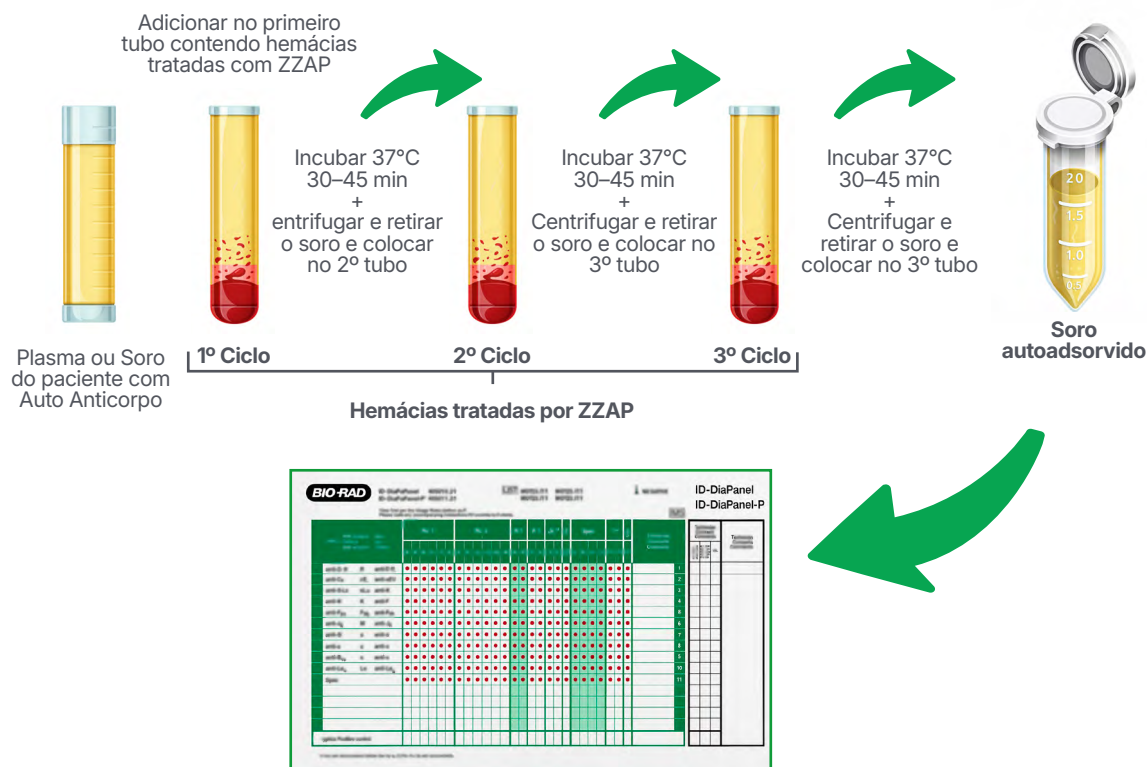
Antes do tratamento



Após o tratamento por ZZAP



Como realizar a autoadsorção?



Técnica do DTT em baixa concentração para utilização nas cartelas de Gel teste Bio-Rad:

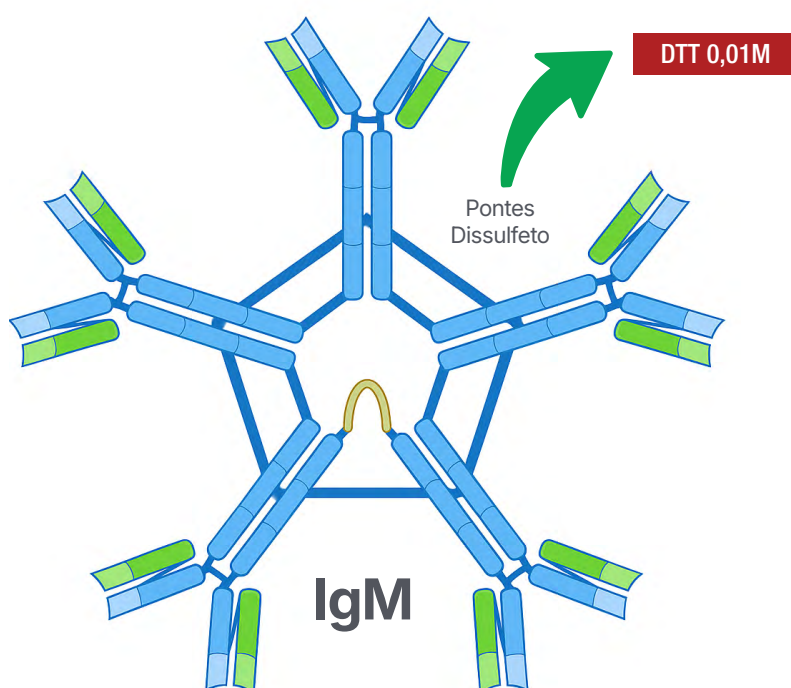
Para quem utiliza o método de aglutinação em coluna da Bio-Rad, poderá validar a técnica do DTT a 0,04M.

Segundo o artigo original, nessa concentração, o DTT é eficaz para destruir o CD38 da superfície da membrana eritrocitária sem desnaturar a maioria dos antígenos de alta frequência. E quando comparado ao tratamento das hemácias com DTT 0,2M, demonstrou outras vantagens, como a redução de 30 minutos no tempo total de realização do teste.

Deixamos as referências bibliográficas e sugerimos validar a técnica antes de sua utilização em seu serviço.

O DTT quando preparado na concentração 0,01M pode ser usado:

- **Para tratar hemácias revestidas por autoanticorpos IgM** que levam a aglutinação espontânea das hemácias *in vitro* e a reações falso-positivas em testes de tipagem ABO/Rh e teste de antiglobulina direto, invalidando-os. Nesse caso, o DTT atua reduzindo as ligações dissulfeto das moléculas de IgM, diminuindo sua polivalência e, portanto, a capacidade de aglutinar diretamente as hemácias..
- **Tratar soro contendo alo ou autoanticorpos IgM:** Nessa concentração, o DTT também pode ser utilizado para resolver os casos onde os anticorpos IgM presentes no soro possam estar "mascarando" a presença de um anticorpo classe IgG.





0,154g DTT



100 mL PBS
ou 100 mL
ID-Diluyente 2



DTT
0,01M

Ou podemos utilizar a diluição de DTT 0,2M como “solução-mãe” e proceder nova diluição:

1 volume do
DTT 0,2M



19 volumes
do PBS ou
Diluent 2



DTT
0,01M

250µL DTT
0,2M

4.750µL
ID-Diluent 2



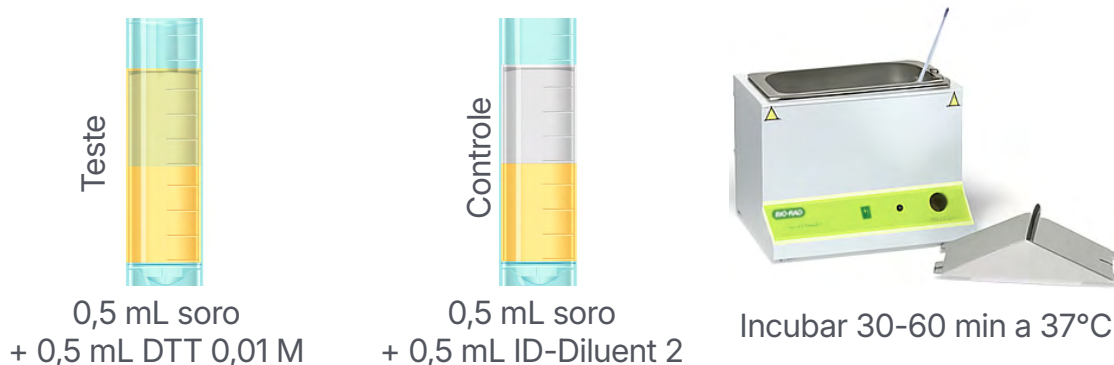
#Fica a Dica

2.2



Tratamento para dispersar interferência de autoanticorpos IgM dispersos no soro:

O tratamento consiste em destruir potentes anticorpos IgM presentes no soro ou plasma do paciente.

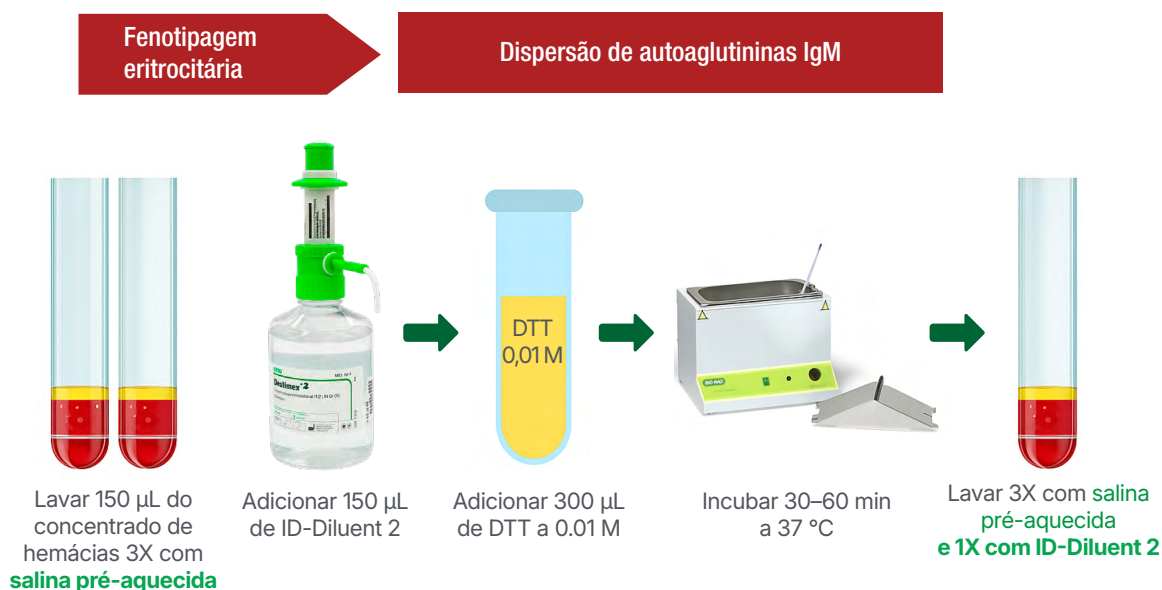


Testar o soro-teste tratado com DTT 0,01M e o soro-controle (que foi diluído na mesma proporção) usando procedimentos padrão.

2.3



Técnica para Tratamento para dispersar interferência de autoanticorpos IgM ligados a membrana eritrocitária



Interpretação

Se reatividade no soro de controle de diluição e ausência de reatividade no soro tratado com DTT	Indica a presença de anticorpos IgM
Se reatividade no soro de controle de diluição e no soro tratado com DTT	Indica presença de anticorpos IgG ou uma mistura de IgG e IgM.
Se ausência de reatividade no soro de controle de diluição	Indica diluição com fraca reatividade do anticorpo e o teste será considerado inválido

Observação

A gelificação de uma amostra de soro ou plasma pode ser observada durante o tratamento com DTT. Essa gelificação pode ocorrer se o DTT tiver sido preparado incorretamente e apresentar concentração acima de 0,01 M. Também pode ocorrer se o soro e o DTT forem incubados por muito tempo.

Uma alíquota da amostra em tratamento pode ser testada após 30 minutos de incubação; se a atividade considerada causada pela IgM tiver desaparecido, não há necessidade de incubação adicional.

Amostras gelificadas não podem ser testadas quanto à atividade de anticorpos, pois o tratamento excessivo com DTT causa a desnaturação de todas as proteínas séricas.

Referências

Manuais de Técnicas:

1. **AMERICAN ASSOCIATION OF BLOOD BANKS.** Technical Manual. 16. ed. [S.l.]: AABB Press, 2008.
2. **JOHNSON, W. J.; STORRY, S. T.; JUDD, J. R.** Judd's Methods in Immunohematology. 3. ed. [S.l.]: AABB Press, 2008.

Artigos científicos:

3. **BEVEL, N.; THORPE, M.; VANNIASINKAM, T.** Is drug interference still an issue for pretransfusion testing of patients on anti CD38 and other monoclonal antibody therapies? Vox Sanguinis, [s.v.], [s.n.], 2024. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/vox.13649>. Acesso em: [24 ago 2025]
4. **BUB, C. B., DOS REIS, I. N., ARAVECHIA, M. G., SANTOS, L. D., BASTOS, E. P., KUTNER, J. M., CASTILHO, L., & CASTILHO, L.** Transfusion management for patients taking an anti-CD38 monoclonal antibody. Revista Brasileira De Hematologia E Hemoterapia, 40(1), 25–29, 2017. <https://doi.org/10.1016/J.BJHH.2017.09.003>. Acesso em: [24 ago 2025]
5. **CHAPUY, C. I.** et al. International validation of a dithiothreitol (DTT)-based method to resolve the daratumumab interference with blood compatibility testing. Transfusion, v. 56, n. 12, p. 2964-2972, 2016. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/trf.13789>. Acesso em: [24 ago 2025]
6. **Izaguirre, E. C., Del Mar Luis-Hidalgo, M., González, L. L., & Castaño, C. A.** (2020). New method for overcoming the interference produced by anti-CD38 monoclonal antibodies in compatibility testing. Blood transfusion = Trasfusione del sangue, 18(4), 290–294. <https://doi.org/10.2450/2020.0004-20>.

7. JESUS, H. W. et al. Validação do Ditiotreitól (DTT) 0,04M: Impacto na redução do tempo de atendimento transfusional em pacientes tratados com Daratumumab. *Hematology Transfusion and Cell Therapy*, v. 46, (S4), p. S1-S1267, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.1458>. Acesso em: [24 ago 2025].

8. MC ROCHA, C NUCCI, MA BRITO, R ACHKAR, R FONTÃO-WENDEL, R FACHINI, S WENDEL. Interferência do Daratumumab (Dara) nos testes pré-transfusionais: otimização do tratamento das hemácias com ditiotreitól (DTT) de baixa concentração para redução do tempo de execução. *Hematology, Transfusion and Cell Therapy*, volume 44, supplement 2, 2022, page s468, issn 2531-1379, <https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.797>. Acesso em: [24 ago 2025].

9. VIZZONI, A., FERNANDES, B., BERTOLO, A., CARMO, I., MELLO, F., & SANTOS, M. Uso do ditiotreitól (DTT) como técnica imuno-hematológica associada ao suporte transfusional de paciente em uso de anticorpo anti-CD38. *Hematology, Transfusion and Cell Therapy*. V.45, Num S4, 2023. DOI: 10.1016/j.htct.2023.09.1339. Acesso em: [24 ago 2025].

SPECIAL EDITION

QUEM É O ZZAP?

**HISTÓRIA
ORIGINAL**

**STAR
SUPER
HERO**

**O VINGADOR DOS
IMUNO-HEMATOLOUCOS**

**HISTÓRIA
ORIGINAL**

QUEM É O ZZAP

Aventura do Dr. Branch e o Reagente ZZAP

Capítulo 1: Os maravilhosos Anticorpinhos: Heróis ou Vilões?

Era uma vez, em um mundo mágico chamado **Terra das Transfusões Sanguíneas**, pequenos heróis chamados **Anticorpos**, que protegiam o território do **Corpo Humano** contra agentes invasores, como vírus e bactérias. Esses heróis eram muito corajosos e sempre estavam prontos para lutar contra qualquer ameaça. Infelizmente, alguns anticorpos se tornaram vilões e começaram a atacar as próprias hemácias, causando muitos problemas. Esses vilões eram conhecidos como **Autoanticorpos**.

Capítulo 2: O Desafio do Dr. Branch

Em um laboratório distante, lá na Califórnia, um cientista brilhante chamado **Dr. Donald Branch** estava determinado a ajudar a **Terra das Transfusões Sanguíneas**. Ele sabia que, para salvar a Terra das Células, precisava encontrar uma maneira de derrotar os autoanticorpos vilões sem machucar os anticorpos bons.

Após muito trabalho, ele descobriu uma poção mágica chamada **ZZAP** que, quando aplicada às células vermelhas do sangue, eliminava os autoanticorpos vilões!



**HISTÓRIA
ORIGINAL**

QUEM É O ZZAP

ANTICORPOS SÃO COMO OS **HERÓIS** DO SISTEMA IMUNOLÓGICO, PROTEGENDO O CORPO CONTRA INVASORES INDESEJÁVEIS COMO VÍRUS E BACTÉRIAS.

AUTOANTICORPOS, NO ENTANTO, SÃO COMO **VILÕES** DISFARÇADOS DE HERÓIS, ATACANDO AS PRÓPRIAS CÉLULAS DO CORPO E DIFICULTANDO A DETECÇÃO DE OUTROS ANTICORPOS IMPORTANTES PARA A SEGURANÇA TRANSFUSIONAL.

ANTICORPOS
PODEM SER
MOCINHOS OU
BANDIDOS!



Capítulo 3: Por Que o Nome **ZZAP**?

Em 1979, o Dr. Branch descobriu um reagente que remove autoanticorpos, permitindo que outros anticorpos fossem detectados, em situações em que isso normalmente seria desafiador, como em anemias hemolíticas autoimunes, por exemplo.

O reagente começou sua vida conhecido como **S-SAP**, uma sigla que se referia ao fundamento da técnica, que é a clivagem das pontes dissulfídicas de proteínas. Mas, como os pesquisadores do laboratório gritavam apressadamente, começou a soar um pouco mais como **“ZAP”**. *(Parecido com o apelido do Whatsapp do século XXI, rsrsrs)*

Com o tempo, tornou-se impossível resistir à ideia da **arma de raios**, aquela icônica arma de ficção científica retratada nos quadrinhos de super-heróis. Esta associação divertida e icônica ajudou a popularizar o reagente entre os pesquisadores, transformando-o em uma verdadeira arma contra os vilões autoanticorpos.



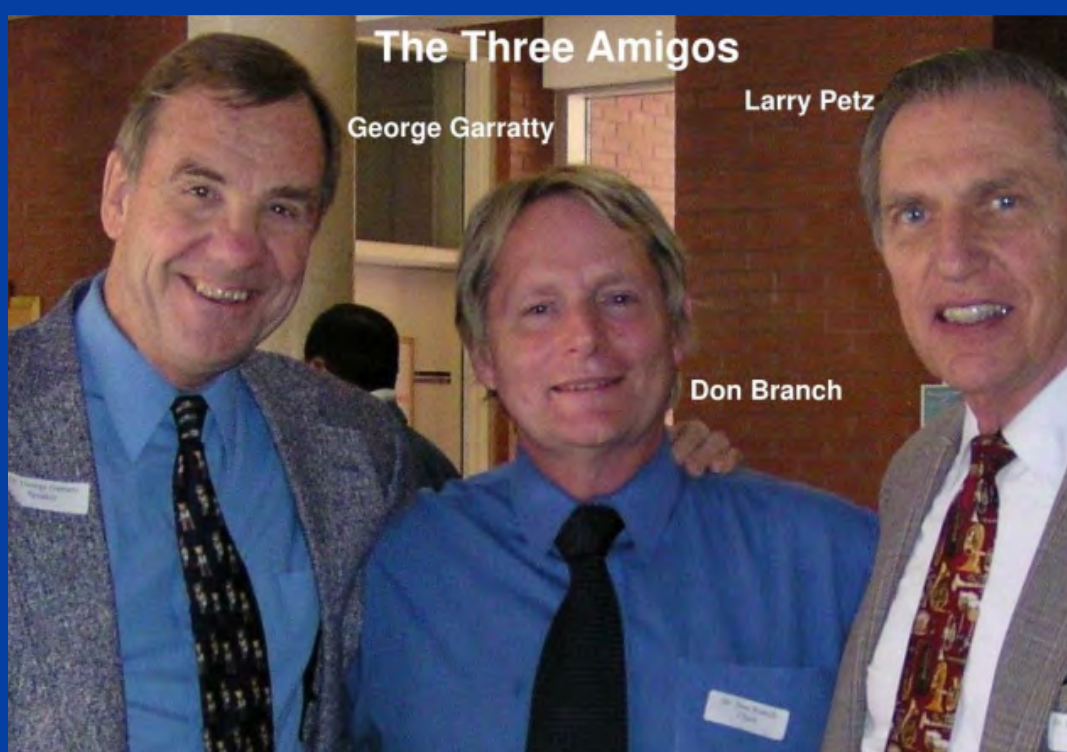
Branch e seus colegas foram inspirados a nomear o reagente que ele descobriu como **“ZZAP”** como uma referência divertida aos quadrinhos de super-heróis da velha escola que usavam 'armas de raios'.

Fonte: Canadian Blood Service. In: <https://professionaleducation.blood.ca/en/blog/senior-scientist-wins-prestigious-award-discovering-gold-standard-reagent-used-transfusion>

Capítulo 4: A Grande Batalha

Com a ajuda do reagente **ZZAP**, o Dr. Branch e seus amigos cientistas começaram a utilizá-lo em pacientes cujas células estavam sendo atacadas pelos autoanticorpos vilões.

Cada vez que usavam a poderosa arma, o **ZZAP**, os vilões eram derrotados e os heróis podiam voltar a proteger a **Terra das Transfusões Sanguíneas**.



“No Serviço de Hemoterapia, quando estão tentando fornecer sangue seguro para as pessoas, autoanticorpos atrapalham a tentativa de encontrar outros anticorpos que podem ser a causa de problemas reais,” explicou o Dr. Branch.

“Podemos dizer que, por causa desse reagente, podemos ter salvo alguns pacientes e reduzido a morbidade apenas porque a equipe médica pôde identificar claramente esses outros anticorpos e, em seguida, fornecer sangue antígeno-negativo”.

FONTE: <https://professionaleducation.blood.ca/en/blog/senior-scientist-wins-prestigious-award-discovering-gold-standard-reagent-used-transfusion>

Capítulo 5: O Legado do Dr. Branch

A descoberta do Dr. Branch se espalhou por todo o mundo, e o **ZZAP** se tornou uma arma essencial na luta contra os autoanticorpos vilões. Ele nunca patenteou sua poção mágica, permitindo que todos os cientistas a usassem para salvar vidas.

Capítulo 6: A Honra do Herói

Donald Branch, cientista sênior da Canadian Blood Services, foi homenageado com o Dale A. Smith Memorial Award pela **Associação para o Avanço do Sangue e Bioterapias (AABB)**. Este prêmio reconhece sua descoberta de um reagente crucial para a medicina transfusional.



<https://professionaleducation.blood.ca/en/blog/senior-scientist-wins-prestigious-award-discovering-gold-standard-reagent-used-transfusion>

QUEM É O ZZAP?

SPECIAL EDITION

**HISTÓRIA
ORIGINAL**

**SIIPER
HERO**

**O VINGADOR DOS
IMUNO-HEMATOLOUCOS**

Resumo da técnica de preparo do reagente ZZAP

Técnica resumida validada no LAC Bio-Rad Brasil.

Recomendamos consultar as referências bibliográficas originais.

Aplicação

O tratamento de hemácias com ZZAP é eficiente para dissociar anticorpos IgG, IgM e frações de Complemento fixados às hemácias, permitindo:

- Autoadsorção a quente e a frio.
- Fenotipagem de pacientes com TAD positivo, especialmente para os sistemas Rh e Kidd.
- Desnaturação de antígenos do sistema Kell, auxiliando na identificação de aloanticorpos adicionais.

OBSERVAÇÃO IMPORTANTE: O tratamento com ZZAP (DTT a 0,2M) destrói todos os antígenos que tenham pontes dissulfeto na estrutura, como por exemplo, os do sistema Kell, Cartwright, LW, Dombrock e a maioria dos antígenos HTLA, além dos antígenos sensíveis ao tratamento por enzimas proteolíticas (M, N, S, s, Fy^a, Fy^b e Xg^a). Por esta razão, as hemácias tratadas por ZZAP **NÃO** poderão ser fenotipadas posteriormente para estes antígenos.

Preparo da Solução de DTT 0,2M:

1. Reagentes:

- 1,0 g de DTT
- 32 mL de solução salina tamponada pH 7,3 ou ID-Diluyente 2 (LISS Bio-Rad®)

2. Procedimento:

- Dissolver 1 g de DTT em 32 mL de solução salina tamponada ou ID-Diluyente 2.
- Homogeneizar com um bastão de vidro.
- Distribuir a solução em alíquotas de 2,5 mL e armazenar a -20°C por até 12 meses.

Resumo da Técnica de preparo do reagente ZZAP

Preparação do Reativo ZZAP:

1. Reagentes:

- 2,5 mL de DTT 0,2M
- 2,0 mL de solução salina tamponada pH 7,3 ou ID-Diluyente 2 (LISS Bio-Rad®)
- 0,5 mL de ID-Papain (Bio-Rad®)

2. Procedimento:

- Misturar 2,5 mL de DTT 0,2M, 0,5 mL de ID-Papain e 2 mL de solução salina tamponada ou ID-Diluyente 2.
- Homogeneizar várias vezes.
- Preparar imediatamente antes do uso. Estável por 24 horas sob refrigeração (2-8°C).



“É o padrão ouro para remoção de autoanticorpos dos glóbulos vermelhos. As pessoas tentaram substituí-lo por outras formas de fazê-lo, mas ninguém pode competir com este reagente específico, e ele é fabricado praticamente da mesma forma que eu o fiz em 1979.”
(D. Branch)

JOURNAL ARTICLE

A New Reagent (ZZAP) Having Multiple Applications in Immunohematology [Get access >](#)

Donald R. Branch, MT(ASCP)SBB, Lawrence D. Petz, M.D.

American Journal of Clinical Pathology, Volume 78, Issue 2, 1 August 1982, Pages 161–167,
<https://doi.org/10.1093/ajcp/78.2.161>

Published: 01 August 1982 **Article history** ▼

Received: 15 September 1981

Accepted: 26 October 1981

Published: 01 August 1982

ARTIGO ORIGINAL!

Donald R. Branch, Lawrence D. Petz, A New Reagent (ZZAP) Having Multiple Applications in Immunohematology, *American Journal of Clinical Pathology*, Volume 78, Issue 2, 1 August 1982, Pages 161–167, <https://doi.org/10.1093/ajcp/78.2.161>

LINK:<https://academic.oup.com/ajcp/article-abstract/78/2/161/1797269?redirectedFrom=PDF>

RREFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS UTILIZADAS:

Judd, W.J. Johnson, S.T. STORRY, J.R. Judd's Methods in Immunohematology. 3a. ed. AABB Press, 2008.

American Association of Blood Banks. Technical Manual, 12th - 16th editions / Standards for Blood Banks and Transfusion Services, 1st - 26th editions. AABB Press, 2008.

Autoimmune Hemolytic Anemias. Donald R. Branch. Lecture Outline. Nov 18, 2014. Disponível em:
<https://www.slideserve.com/lillith-park/autoimmunehemolytic-anemias> .
Último acesso em 11 ago 2025.

Izaguirre, E. C., Del Mar Luis-Hidalgo, M., González, L. L., & Castaño, C. A. (2020). New method for overcoming the interference produced by anti-CD38 monoclonal antibodies in compatibility testing. *Blood transfusion = Trasfusione del sangue*, 18(4), 290–294.
<https://doi.org/10.2450/2020.0004-20>.

**MATERIAL PRODUZIDO POR ANA LÚCIA GIRELLO
UNIVERSIDADE BIO-RAD DE IMUNO-HEMATOLOGIA
COPYRIGHT 2024**

ANA LÚCIA GIRELLO

- Biomédica, Publicitária, Mestre em Análises Clínicas, Designer Instrucional Sênior, Pós graduanda em Design Instrucional.
- Consultora Científica para a Bio-Rad Brasil em Imuno-hematologia
- Designer Instrucional, Mentora e Tutora dos Cursos da Universidade Bio-Rad em Imuno-hematologia e Hemoglobinopatias

SILVIA LEÃO BONIFÁCIO

- Bióloga, Especialista em Análises Clínicas (IPESSP)
- Especialista em Gestão da Qualidade. Auditora-líder, com experiência na implementação de Sistemas da Qualidade e Acreditação ONA, ISO, AABB.
- Coordenadora de laboratório da Agência Transfusional do Instituto do Câncer do Estado de São Paulo.
- Consultora da empresa Byoline Corporation para projetos de Educação corporativa para serviços e empresas da área de Hemoterapia e Sócia-proprietária da Byoline Educação (SP)



Bio-Rad
Laboratories, Inc.

Grupo de
Diagnóstico Clínico

Web site bio-rad.com **USA** 1 800 424 6723 **Australia** 61 2 9914 2800 **Austria** 43 1 877 89 01 177 **Belgium** 32 (0)3 710 53 00 **Brazil** 55 11 3065 7550
Canada 1 905 364 3435 **China** 86 21 6169 8500 **Czech Republic** 420 241 430 532 **Denmark** 45 44 52 10 00 **Finland** 358 09 804 22 00
France 33 01 47 95 69 65 **Germany** 49 89 31 884 0 **Hong Kong** 852 2789 3300 **Hungary** 36 1 459 6100 **India** 91 124 4029300
Israel 972 03 963 6050 **Italy** 39 02 216091 **Japan** 81 3 6361 7000 **Korea** 82 2 3473 4460 **Mexico** 52 555 488 7670 **The Netherlands** 31 (0)318 540 666
New Zealand 64 9 415 2280 **Norway** 47 23 38 41 30 **Poland** 48 22 331 99 99 **Portugal** 351 21 472 7700 **Russia** 7 495 721 14 04
Singapore 65 6415 3188 **South Africa** 27 (0) 861 246 723 **Spain** 34 91 590 5200 **Sweden** 46 08 555 12700 **Switzerland** 41 026 674 55 05
Taiwan 886 2 2578 7189 **Thailand** 66 662 651 8311 **United Arab Emirates** 971 4 8187300 **United Kingdom** 44 020 8328 2000