

Instructions for use



Sanquin Reagents B.V.
Plesmanlaan 125
1066 CX Amsterdam
The Netherlands

Phone: +31 20 5123599
Fax: +31 20 5123570
Reagents@sanquin.nl
www.sanquin.org/reagents

Pelikloon anti-D (IgM) monoclonal

REF K1255

IVD CE 0344

005_v04 07/2019 (pt)

*Exclusivamente para uso
profissional*

Reagente de tipagem de sangue para a detecção do antígeno D nos eritrócitos humanos

Informação geral

O reagente Pelikloon anti-D (IgM) monoclonal para a tipagem de sangue (o número de clone vem mencionado no certificado correspondente do documento de análise/autorização, e no rótulo do produto) é preparado a partir do sobrenadante da cultura de linhas celulares de hibridoma estável, como em primeira mão foi descrito por Köhler e Milstein (Nature 1975). Este reagente monoclonal contém anticorpos humanos IgM, e foi especialmente seleccionado e desenvolvido para fornecer uma alternativa fiável aos reagentes policlonais. Este reagente preenche os requisitos dos padrões e directrizes aplicáveis. As características de desempenho encontram-se mencionadas nos documentos de autorização, que, a pedido, são fornecidos com o produto. O princípio do teste é a técnica de aglutinação, baseada na reacção antígeno/anticorpo. O reagente pode ser usado em tubo giratório ou método de microplaca. Este reagente permite detectar todos os antígenos D normais e a maioria dos antígenos D fracos, mas não a variante D da categoria VI. Recomenda-se vivamente a inclusão de controlos positivos e negativos por cada série de determinações de grupo sanguíneo.

Precauções

Exclusivamente para o diagnóstico in vitro. Os reagentes devem ser armazenados entre 2-8 °C. Frascos danificados ou com fugas não devem ser usados. Os reagentes (por abrir ou abertos) não devem ser utilizados para além do prazo de validade impresso no rótulo do frasco. NaN₃ a 0,1% (w/v) é usado como conservante. Não é de excluir a existência de agentes infecciosos no reagente. A manipulação e a destruição de cada recipiente devem ser efectuadas com cuidado. Um aspecto turvo pode ser indiciador de contaminação microbiana. Para detectar a deterioração do reagente, recomenda-se testar o mesmo como fazendo parte do programa do controlo de qualidade do laboratório, usando controlos apropriados. A eliminação de resíduos deve ser tratada de acordo com o regulamento do seu laboratório, depois de completado o teste.

Colheita e preparação das amostras

As amostras de sangue devem ser colhidas com assepsia, com ou sem adição de anticoagulantes. Caso haja atraso no teste das amostras de sangue, o armazenamento deve ser efectuado entre 2-8 °C.

A preparação da amostra encontra-se descrita nos respectivos procedimentos do teste.

Procedimentos de teste

Método do tubo giratório

Requisitos para os tubos: tubos de vidro de fundo redondo; dimensões 75 x 10/12 mm.

1. Prepare uma suspensão de células de eritrócitos a 3-5% para ser testada em salino isotónico.
2. Adicione a um tubo de ensaio:
 - 1 gota de reagente de Pelikloon
 - 1 gota de suspensão de células a 3-5% e misture bem.
3. Centrifugue durante 20 segundos a 1000 rcf ou por um período adequado à calibração da centrífuga.
4. Volte a suspender as células mediante agitação ligeira e proceda à leitura macroscópica para a aglutinação.

Método de microplaca

Requisitos para a microplaca: microplacas em poliestireno, com fundo redondo.

1. Prepare uma suspensão de células de eritrócitos a 2-3% para ser testada em salino isotónico.
2. Junte num recipiente:
 - 1 gota de reagente de Pelikloon
 - 1 gota de suspensão de células a 2-3%
3. Misture o conteúdo vigorosamente durante 5 segundos usando um misturador rotatório a 600-700 rpm.
4. Incube durante 10-15 minutos à temperatura ambiente (18-25 °C) sem agitar.
5. Centrifugue durante 10-20 segundos a 700 rcf ou por um período adequado à calibração da centrífuga.
6. Volte a agitar a microplaca durante 1-4 minutos no misturador rotatório a 600-700 rpm ou durante o tempo necessário para voltar a suspender as células nos recipientes com reacções negativas.
7. Deixe repousar a microplaca durante 1 minuto para permitir a sedimentação das partículas mais pequenas.
8. As reacções podem agora ser lidas macroscopicamente ou através dum leitor automático.

Interpretação

Uma reacção positiva (isto é, aglutinação) indica a presença do antígeno Rh D. As reacções positivas fracas (2+ ou menos) ou negativas devem ser verificadas, se necessário, quanto à presença de um antígeno D fraco ou parcial, utilizando um reagente anti-D Pelikloon anti-D adequado (K1151, K1157).

Ocorrência	Caucasianos	Negros
Antígeno D	85%	92%

Limitações

Resultados positivos inesperados devidos a: pseudoaglutinação, autoaglutinação, reacção de campo misto, presença de geleia de Wharton juntamente com células do cordão umbilical.

Resultados inesperadamente negativos ou fracos devidos a: antigénios fracos, reacção de campo misto, actividade reduzida do reagente. Células variantes antigénicas podem causar reacções positivas ou negativas inesperadas em amostras previamente tipadas com reagentes de grupagem sanguínea de fontes policlonais ou fontes monoclonais derivadas de outras linhas celulares.

Podem ocorrer falsos resultados positivos, ou falsos negativos, pela contaminação de materiais de teste, ou de algum desvio da técnica recomendada.

Os eritrócitos com um teste directo de antiglobulina positivo (TDA) podem originar falsos resultados positivos. Recomenda-se a utilização do controlo Pelikloon monoclonal para a detecção desse tipo de resultados inválidos de teste.

Os reagentes Pelikloon monoclonais para a tipagem de sangue foram otimizados para serem utilizados na(s) técnica(s) recomendada(s) nesta embalagem. Salvo recomendação expressa em contrário, a sua adequabilidade a outras técnicas deve ser determinada pelo utilizador.

Referências

1. Race R.R. and Sanger R.; Blood Groups in Man, 6th ed. Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975.
2. Issit P.D.; Applied Blood Group Serology, 3rd ed. Montgomery Scientific Publications, Miami, Florida, USA, 1985.
3. Daniels G.; Human Blood Groups. Blackwell Science Ltd. 1995.
4. Reid M.E. et al.; The Blood Group Antigen Facts Book. Facts Book Series, 3rd ed. 2012.
5. Mollison P.L. et al.; Blood Transfusion In Clinical Medicine, 9th ed. Blackwell, Oxford, 1993.

Os produtos Sanquin têm garantia de desempenho conforme descrito nas instruções de utilização do fabricante original. É essencial uma adesão rigorosa aos procedimentos, configurações de teste, reagentes e equipamento recomendados. A Sanquin declina qualquer responsabilidade em caso de desvio em relação ao acima mencionado.