

# 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 mix (IgG/IgM) monoclonal**

**REF K1157**

**IVD CE 0344**

006\_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 mix (IgG/IgM) monoclonal para a tipagem de sangue (os números de clone vêm mencionados 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 IgG/IgM e foi especialmente selecionado 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. O reagente permite detectar todos os antígenos D normais e a maioria dos antígenos D fracos. A variante D da categoria VI é apenas detectada no tubo de ensaio após a adição de soro poliespecífico anti-humano. 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. NaN<sub>3</sub> 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 do 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 ou no seu próprio plasma ou soro.
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.

Se não for visível aglutinação, o teste deverá ser continuado do seguinte modo:

5. Misture bem e incube os tubos num banho de água durante 15 a 20 minutos a 37 °C.
6. Lave as células uma vez num resto de salino isotónico. Decante por completo (uma lavagem é suficiente; não existe qualquer desvantagem em lavar 3 ou 4 vezes, tal como nos testes convencionais).
7. Adicione 2 gotas de soro poliespecífico anti-humano e misture bem.
8. Centrifugue durante 20 segundos a 1000 rcf ou por um período adequado à calibração da centrífuga.
9. Volte a suspender as células mediante agitação ligeira e proceda à leitura macroscópica para a aglutinação.
10. Se não for visível aglutinação, adicione 1 gota de Células de Controlo Coombs e repita os passos 8 e 9. A reacção deverá, então, ser positiva. Se o resultado do teste permanecer negativo, é sinal de que os resultados são inválidos e o teste deve ser repetido.

### 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 ou no seu próprio plasma ou soro.
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 reações negativas.
7. Deixe repousar a microplaca durante 1 minuto para permitir a sedimentação das partículas mais pequenas.
8. As reações podem agora ser lidas macroscopicamente ou através dum leitor automático.

#### Interpretação

Uma reacção positiva (isto é, aglutinação) indica a presença do antigénio Rh D. Uma reacção positiva, ainda que fraca ou negativa com outras técnicas, indica a presença de um antigénio D fraco ou parcial e recomenda-se a investigação adicional para elucidar a situação do Rh D. Uma reacção negativa (isto é, sem aglutinação visível) indica a ausência de antigénio Rh D.

Ocorrência	Caucasianos	Negros
Antigénio 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 reações 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) originam falsos resultados positivos. Recomenda-se a utilização do controlo Pelikloon monoclonal para a detecção desse tipo de resultados inválidos de teste.

Uma lavagem ineficaz dos eritrócitos a testar pode originar falsos resultados negativos, devido à neutralização do soro poliespecífico anti-humano pelas proteínas (IgG) que ainda estejam presentes no tubo.

Os reagentes Pelikloon monoclonais para a tipagem de sangue foram optimizados 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, 6<sup>th</sup> ed. Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975.
2. Issit P.D.; Applied Blood Group Serology 3<sup>rd</sup> 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, 3<sup>rd</sup> ed. 2012.
5. Mollison P.L. et al.; Blood Transfusion In Clinical Medicine, 9<sup>th</sup> 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.*