

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-A (IgM) monoclonal	REF K 1188	IVD C€ 0344
Pelikloon anti-B (IgM) monoclonal	REF K 1189	IVD C€ 0344
Pelikloon anti-A,B (IgM) monoclonal	REF K 1190	IVD C€ 0344
001_v04 07/2019 (pt)	<i>Exclusivamente para uso profissional</i>	

Reagentes de grupagem de sangue para a detecção do antígeno A e/ou B nos eritrócitos

Informação geral

Os reagentes Pelikloon, (IgM) monoclonais, para grupagem de sangue anti-A, anti-B, e anti-A,B (os números clone encontram-se mencionados no respectivo certificado do documento de análise/autorização) são preparados a partir de sobrenadantes de cultura de linhas celulares de hibridoma estável, conforme inicialmente descrito por Köhler e Milstein (Nature 1975). Estes reagentes monoclonais contêm anticorpos murinos IgM e foram especialmente seleccionados e desenvolvidos para providenciar uma alternativa de confiança aos reagentes policlonais. Estes reagentes preenchem os requisitos dos padrões evidenciados e linhas de orientação em causa. As características de execução 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. Os reagentes podem ser usados em tubo giratório ou método de microplaca. Estes reagentes são também adequados para uso em sistemas de teste automatizados e devem ser padronizados e validados pelo utilizador. Recomenda-se vivamente a inclusão de controlos positivos e negativos por cada série de determinações de grupo sanguíneo. Para além de determinar o grupo sanguíneo ABO dos eritrócitos, o soro do paciente deve ser testado na presença dos correspondentes aloanticorpos anti-A e/ou anti-B, usando eritrócitos reagentes A₁ e B (vide folheto relevante na embalagem).

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. Os reagentes anti-A e anti-B foram corados para facilitar o reconhecimento. Não é de todo adequado assumir que os reagentes se encontram isentos de agentes infecciosos. 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. O dispositivo de resíduos deve ser tratado 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. Se houver atraso em testar as 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.

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 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 (ou seja, aglutinação) indica a presença do respectivo antigénio. Uma reacção negativa (ou seja, aglutinação invisível) indica ausência do respectivo antigénio. O grupo sanguíneo ABO é determinado pelo padrão de reacção obtido com os vários anti-soros (ver a tabela no verso). Se o padrão de reacção não corresponder a uma das 4 combinações abaixo indicadas então a razão para os resultados discrepantes deve ser determinada antes de atribuir um grupo sanguíneo ABO ao paciente/dador em questão.

Reacções de aglutinação na grupagem ABO de rotina

eritrócitos + reagente de grupagem de sangue			soro/plasma + eritrócitos reagentes		
anti-A	anti-B	anti-A,B	células A1	células B	grupo sanguíneo (frequência)
0	0	0	+	+	O (46,7%) ⁴⁾
+	0	+	0	+	A (41,7%) ⁴⁾
0	+	+	+	0	B (8,6%) ⁴⁾
+	+	+	0	0	AB (3,0%) ⁴⁾

Limitações

Resultados positivos inesperados devidos a: pseudoaglutinação, autoaglutinação, reacção de campo misto, o uso 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 resultados falsos positivos, ou falsos negativos, através da contaminação dos materiais de teste, ou de algum desvio da técnica recomendada.

Bibliografia

1. Widmann F.K. ed; AABO Technical Manual, 11th ed. 1993, Bethesda (MD).
2. Race R.R. and Sanger R.; Blood Groups in Man, 6th ed. Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975.
3. Issit P.D.; Applied Blood Group Serology, 3rd ed. Montgomery Scientific Publications, Miami, Florida, USA, 1985.
4. Daniels G.; Human Blood Groups. Blackwell Science Ltd. 1995.
5. Guidelines for the Blood Transfusion Service H.M.S.O. 2nd ed. 1993.
6. Reid M.E., et al. The Blood Group Antigen FactsBook, FactsBook Series, 3rd ed. 2012

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.