

# 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	
<b>Pelikloon anti-C (IgM) monoclonal</b>	<b>REF K1195 K1202</b>	<b>IVD CE 0344</b>
<b>Pelikloon anti-c (IgM) monoclonal</b>	<b>REF K1196 K1203</b>	<b>IVD CE 0344</b>
<b>Pelikloon anti-E (IgM) monoclonal</b>	<b>REF K1191 K1204</b>	<b>IVD CE 0344</b>
<b>Pelikloon anti-e (IgM) monoclonal</b>	<b>REF K1197 K1205</b>	<b>IVD CE 0344</b>
002_v04 07/2019 (pt)	<i>Exclusivamente para uso profesional</i>	

Reagentes de tipagem de sangue para a detecção dos antígenos Rhesus C, c, E ou e, nos eritrócitos humanos

## Informação geral

Os reagentes Pelikloon monoclonais anti-C, anti-c, anti-E e anti-e (IgM) para a tipagem de sangue (o número de clone vem mencionado no certificado correspondente do documento de análise/autorização, e no rótulo do produto) são preparados a partir do sobrenadante da cultura de linhas celulares de hibridoma estável, como em primeira mão foi descrito por Köhler e Milstein (Nature 1975). Encontram-se disponíveis duas linhas diferentes de reagentes Pelikloon (que variam na composição do clone) e, se desejado, podem ser utilizadas para a confirmação de resultados de teste obtidos com qualquer das linhas de reagentes. Estes reagentes monoclonais contêm anticorpos humanos IgM e foram especialmente seleccionados e desenvolvidos para fornecer uma alternativa fiável aos reagentes policlonais. Estes reagentes preenchem os requisitos dos padrões e directrizes aplicáveis. As características de desempenho encontram-se mencionadas nos documentos de autorização, que, a pedido, são fornecidos com os produtos. O princípio do teste é a técnica de aglutinação, baseada na reacção antígeno/anticorpo. Estes reagentes podem ser usados em tubo giratório ou método de microplaca. 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 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. 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.
5. No caso de os resultados do teste serem negativos ou suscitarem dúvidas, incubar durante 15–20 minutos à temperatura ambiente (18–25°C) e repetir os passos 3 e 4.

### 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 antígeno. Caso se observem outras discrepâncias entre os reagentes da primeira e da segunda linhas, é favor entrar em contacto com o seu distribuidor Sanquin.

Uma reacção negativa (ou seja, aglutinação não visível) indica ausência do respectivo antígeno.

Ocorrência	Caucasianos	Negros
Antígeno C	68%	27%
Antígeno c	80%	96%
Antígeno E	29%	22%
Antígeno e	98%	98%

### 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: antígenos 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.

### Bibliografia

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.*