

Determinación cualitativa de antígeno A y/o B en hematíes humanos IVD

Conservar a 2-8 °C.

RESUMEN

En 1900, Landsteiner descubrió que el suero de algunas personas podía aglutinar los hematíes de otras. Actualmente están reconocidos cuatro fenotipos: O, A, B, y AB. También se han identificado subgrupos de A y B.

Grupo Directo			Grupo Inverso				ABO Fenotipo	Caucasianos %
A	B	A,B	A ₁	A ₂	B	O		
+	0	+	0	0	+	0	A	43
0	+	+	+	+	0	0	B	9
0	0	0	+	+	+	0	O	44
+	+	+	0	0	0	0	AB	4

USO PREVISTO

Los reactivos ABO son reactivos para grupaje sanguíneo destinados a ser utilizados para determinar cualitativamente la presencia o ausencia de los antígenos A y B en hematíes de donantes de sangre o pacientes que requieren una transfusión de sangre cuando se analizan de acuerdo con los procedimientos establecidos en estas IDU.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Los reactivos contienen anticuerpos contra los antígenos A y/o B de hematíes humanos y provocará una aglutinación directa de los hematíes que lleven el antígeno ABO correspondiente. La no aglutinación indica en general la ausencia de los antígenos ABO correspondientes en los hematíes humanos (ver Limitaciones).

REACTIVOS

Los reactivos de Reactiva Search ABO IgM Monoclonales para grupaje sanguíneo contienen anticuerpos monoclonales de ratón diluidos en tampón fosfato, que contiene cloruro sódico, EDTA y albúmina bovina. Los reactivos no contienen ni consisten en sustancias CMR, o sustancias disruptoras endocrinas o que puedan resultar en sensibilización o reacción alérgica por parte del usuario. Cada reactivo se suministra en la dilución óptima para su utilización en todos los procedimientos aquí recomendados sin necesidad de diluciones o adiciones suplementarias. El lote y la caducidad vienen detallados en la etiqueta del vial.

PRECAUCIONES

- Los reactivos son sólo para uso en diagnóstico in vitro.
- Si el vial del reactivo está roto o agrietado, descartar inmediatamente su contenido.
- No utilizar reactivos caducados. (ver la etiqueta de vial).
- No utilizar reactivos que presenten precipitados.
- Deben manipularse los reactivos con la indumentaria apropiada de protección, tales como guantes desechables y bata de laboratorio.
- Los reactivos han sido filtrados a través de cápsulas de 0.2 µm para reducir la carga biológica, pero no son suministrados estériles. Una vez abierto el vial, el contenido debe permanecer viable hasta la fecha de caducidad, siempre y cuando no haya una marcada turbidez la cual podría ser indicativa de deterioración o contaminación del reactivo.
- Los reactivos contienen < 0.1% de azida sódica. La azida sódica puede ser tóxica, si se ingiere y puede reaccionar con cobre o plomo de las tuberías y formar componentes explosivos. En caso de eliminación del producto, hacerlo con abundante agua del grifo.
- Ningún método puede garantizar que los productos derivados de fuentes humanas o animales están libres de enfermedades infecciosas. Manipular y desechar con precaución los viales y su contenido.
- Para mayor información sobre la eliminación del producto o descontaminación en caso de derrame, ver las fichas de seguridad.

NOTAS

1. Se recomienda la utilización de un control positivo y un control negativo para testar de forma paralela en cada tanda de tests. Los tests deben considerarse inválidos si los controles no muestran los resultados esperados.

Anti-A+ B MONOCLONAL

- Dado que estos reactivos no contienen potenciadores macromoleculares, es muy poco probable que se produzcan falsas reacciones positivas con células recubiertas de IgG.
- Las muestras sanguíneas de de los subgrupos A y B débiles (ej. Ax) pueden dar lugar a falsos negativos o bien reacciones débiles si se usan procedimientos en placas de gel, placas microtítulo y porta. Por ello, se recomienda testarlos de nuevo utilizando la técnica en tubo.
- Antes de que el grupo sanguíneo ABO de individuos mayores de 6 meses pueda ser confirmado, los resultados deberían estar confirmados mediante testado de su suero o plasma frente a células de grupos A1 y B conocidas.
- Antes de usar, dejar que el reactivo alcance la temperatura ambiente. Tan pronto como se haya utilizado el reactivo, almacenarlo de nuevo a 2-8 °C.
- En los Procedimientos, un volumen equivale aproximadamente a 50 µl cuando se utiliza el gotero suministrado.
- La utilización de los reactivos y la interpretación de los resultados debe llevarse a cabo por personal cualificado y entrenado de acuerdo a las normativas vigentes en cada país.
- El usuario debe determinar la idoneidad del reactivo para su uso en otros métodos.

CONSERVACIÓN

Los viales de reactivo deben almacenarse a 2-8 °C al recibirlos. El almacenamiento prolongado a temperaturas fuera de este rango puede resultar en una pérdida acelerada de la reactividad del reactivo.

MATERIAL NECESARIO PERO NO PROPORCIONADO

- Pallitos aplicadores.
- Lector de placas automático.
- Tarjetas de NaCl para prueba enzimática y crioaglutininas.
- Centrifugadora.
- Solución modificada.
- Portaobjetos de vidrio para microscopio o cartulinas blancas.
- Tubos de ensayo de vidrio (10 x 75 mm o 12 x 75 mm).
- Centrífuga de microplacas.
- Casets (neutros).
- Centrífuga para casets.
- Diluyente de hematíes Ortho 0.8% Red Cell Diluent.
- Agitador de placas.
- Solución de PBS (pH 6,8-7,2) o solución salina isotónica (pH 6,5-7,5).
- Hematíes para control positivo y negativo:
 - Anti-A: grupo A (control positivo) y grupo O (control negativo).
 - Anti-B: grupo B (control positivo) y grupo O (control negativo).
 - Anti-A, B: grupo A y grupo B (controles positivos) y grupo O (control negativo).
- Centrífuga de tubos de ensayo.
- Microplacas de pocillos en "U" validadas.
- Pipetas volumétricas.

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Las muestras de sangre se pueden recolectar en EDTA, citrato, anticoagulantes CPDA o como una muestra coagulada. Las muestras deben analizarse lo antes posible después de la recolección. Si se produce un retraso en la prueba, almacene las muestras a 2-8 °C. Las muestras que presenten hemólisis grave o contaminación microbiana no deben utilizarse para la prueba. Las muestras de sangre que muestran evidencia de lisis pueden dar resultados poco fiables. Es preferible (pero no esencial) lavar todas las muestras de sangre con PBS o solución salina isotónica antes de realizar la prueba.

PROCEDIMIENTOS

A. Método en Tubo

- Preparar una suspensión de hematíes al 2-3% en PBS o solución salina isotónica.
- Añadir en un tubo identificado: 1 volumen de reactivo Anti-ABO y 1 volumen de la suspensión de hematíes.
- Mezclar minuciosamente e incubar a temperatura ambiente durante 1 minuto.
- Centrifugar los tubos durante 10 segundos a 1000 rcf (g) o a una fuerza y tiempo alternativos adecuados.
- Resuspender cuidadosamente el botón celular y leer macroscópicamente por aglutinación.

- Cualquier tubo que muestre un resultado negativo o cuestionable, debe ser incubado durante 15 minutos a temperatura ambiente.
- Tras la incubación, repetir los pasos 4 y 5.

B. Método por tarjetas (NaCl, prueba enzimática y tarjetas de crioaglutininas)

- Preparar una suspensión de hematíes al 0,8% en solución modificada.
- Retirar el papel de aluminio de tantos microtubos como sea necesario.
- Colocar en un microtubo apropiado: 50 µL de suspensión de hematíes y 25 µL de reactivo Anti ABO de Reactiva Search.
- Centrifugar las tarjetas en la centrífuga de tarjetas.
- Leer macroscópicamente en busca de aglutinación.

C. Método por casetes neutrales

- Preparar una suspensión de hematíes al 0.8% .
- Retirar el papel de aluminio de tantas cámaras de reacción como sea necesario.
- Colocar en la cámara de reacción adecuada: 50 µL de suspensión de hematíes y 40 µL de reactivo Anti ABO de Reactiva Search.
- Centrifugar los casetes en una centrífuga.
- Leer macroscópicamente en busca de aglutinación.

D. Método de Microplaca, usando pocillos "U"

- Preparar una suspensión al 2-3% de hematíes en PBS o solución salina isotónica.
- Depositar en el pocillo apropiado: 1 volumen de reactivo Anti-ABO y 1 volumen de suspensión de hematíes.
- Mezclar minuciosamente, preferiblemente usando un agitador de microplacas, cuidando de evitar cualquier contaminación cruzada.
- Incubar a temperatura ambiente durante 15 minutos (tiempo en función del usuario).
- Centrifugar la microplaca durante 1 minuto a 140 rcf o a una fuerza y tiempo alternativos adecuados.
- Resuspender el botón celular mediante una agitación cuidadosamente controlada en un agitador de microplacas.
- Leer macroscópicamente o con un lector automático validado.
- Cualquier reacción débil debe ser repetida con el método en tubo.

E. Método en porta

- Preparar una suspensión de hematíes al 35-45% en suero, plasma o PBS o solución salina isotónica o usar sangre entera anticoagulada (en su propio plasma)
- Colocar en un portaobjetos de vidrio o tarjeta etiquetados: 1 volumen de reactivo Anti ABO de Reactiva Search y 1 volumen de suspensión de hematíes.
- Con un paillo aplicador limpio, mezclar el reactivo y las células en un área de aproximadamente 20 x 40 mm.
- Inclinar lentamente el portaobjetos hacia adelante y hacia atrás durante 30 segundos, y seguir mezclando ocasionalmente durante el período de 1 minuto, manteniendo el portaobjetos a temperatura ambiente.
- Leer macroscópicamente después de 1 minuto con luz difusa y no confundir las hebras de fibrina con aglutinación.
- Cualquier reacción débil debe repetirse mediante la técnica del tubo.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

- Positivo: La aglutinación de hematíes constituye un resultado positivo y dentro de las limitaciones aceptadas para el procedimiento del test, indica la presencia de antígeno ABO correspondiente en los hematíes.
- Negativo: La ausencia de aglutinación de hematíes constituye un resultado negativo y dentro de las limitaciones aceptadas para el procedimiento del test, indica la ausencia del antígeno ABO correspondiente en los hematíes.
- Discrepancias: Si no existe correlación entre los resultados obtenidos con el grupo directo y el grupo inverso, es preciso realizar más pruebas.

ESTABILIDAD DE LAS REACCIONES

- Leer los tests realizados en microplacas y tubos inmediatamente tras la centrifugación.
- Los tests en porta deben ser interpretados tras un máximo de 1 minuto a fin de asegurar la especificidad y evitar la posibilidad de que un resultado negativo sea incorrectamente interpretado como positivo debido al secado del reactivo.



3. Los resultados de tests realizados a temperaturas distintas de las aquí recomendadas deben ser interpretados con cautela.

LIMITACIONES

1. Los antígenos ABO no están totalmente desarrollados en el nacimiento, por lo que pueden darse reacciones más débiles con muestras de neonatos y de cordón umbilical.
2. Al utilizar el reactivo monoclonal anti A, B, las muestras de los subgrupos A o B débiles (ej.Ax) pueden dar lugar a falsos negativos o reacciones débiles cuando se analizan mediante porta, microplacas o gel. Se recomienda pues re-testar las muestras de subgrupos débiles mediante la técnica en tubo.
3. Muestras conservadas pueden dar reacciones mas débiles que no muestras frescas.
4. También pueden darse falsos resultados positivos o negativos debido a:
 - Contaminación de los materiales del test.
 - Conservación inadecuada, concentración celular, tiempo o temperatura de incubación.
 - Centrifugación inapropiada o excesiva.
 - Desviación de las técnicas recomendadas.
 - Muestras de cordón umbilical contaminadas con gelatina de Wharton.
5. El usuario es responsable del funcionamiento de los reactivos en cualquier otro método distinto de los mencionados en Procedimientos.
6. Cualquier desviación de los procedimientos recomendados debería ser validada antes de su utilización.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

1. Antes de su liberación, cada lote de este reactivo se probó utilizando los métodos recomendados en estas IDU. Las pruebas cumplieron con los requisitos establecidos en la versión/edición actual de las "Directrices para los servicios de transfusión de sangre en el Reino Unido" y las "Especificaciones técnicas comunes".
2. La especificidad en origen de los anticuerpos monoclonales está demostrada frente a un panel de hematíes antígenos-negativo.
3. Los reactivos Reactiva Search ABO monoclonales no detectan criptoantígenos como T, Tn or Cad.
4. El Control de Calidad de los reactivos se realizó utilizando hematíes con fenotipos que fueron verificados por un centro de transfusión de sangre del Reino Unido y habían sido lavados con PBS o solución salina isotónica antes de su uso.

BIBLIOGRAFÍA

1. Marion E. Reid and Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens and Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 181.
2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6.
3. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. 6th Edition 2002. The Stationary Office.
4. AABB Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
5. British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force. Recommendations for evaluation, validation and implementation of new techniques for blood grouping, antibody screening and cross matching. Transfusion Medicine, 1995, 5, 145-150.

PRESENTACIÓN:

CONT. 1x10 ml CODIGO: RSHC-005