

DETERMINACIÓN CUALITATIVA DE ANTÍGENO A Y/O B EN HEMATÍES HUMANOS IVD

Conservar a 2-8°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

El reactivo provocará una aglutinación directa de los hematíes que lleven el correspondiente antígeno ABO. La no aglutinación indica en general la ausencia de antígenos ABO (ver limitaciones).

SIGNIFICADO CLÍNICO

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			ABO Fenotipo	Caucasianos %
A	B	A,B	A	42
+	0	+	B	10
0	+	+	O	44

REACTIVOS

Los reactivos Reactiva Search ABO IgM Monoclonales para grupo sanguíneo contienen anticuerpos monoclonales de ratón diluidos en tampón fosfato, que contiene cloruro sódico, EDTA y albúmina bovina. Cada reactivo se suministra en la dilución óptima para su utilización en todas las técnicas aquí recomendadas sin necesidad de diluciones o adiciones suplementarias. El lote y la caducidad vienen detallados en la etiqueta del vial.

Producto	Línea Celular/Clon	Color	Colorante
Anti – A	9113D10	Azul	Azul patentado
Anti – B	9621A8	Amarillo	Tartracina

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. 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

- Se recomienda la utilización de un control positivo y un control negativo de forma paralela en cada tanda de tests. Los tests deben considerarse inválidos si los controles no muestran los resultados esperados.
- Es importante incluir un control negativo, debido a que los potenciadores macromoleculares del reactivo pueden provocar falsas reacciones positivas con las células recubiertas de IgG.
- 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 otras técnicas.

CONSERVACIÓN

No congelar. Los viales de reactivo deben ser conservados a 2-8°C. Almacenamientos prolongados, a temperaturas fuera de este rango, pueden acelerar la pérdida de reactividad.

MATERIAL NECESARIO

- Tubos de vidrio (10 x 75 mm o 12 x 75 mm).
- Centrifuga de tubos.
- Pipetas volumétricas.
- Portaobjetos de vidrio para el microscopio.
- Stik aplicador.
- Tampón fosfato salino (PBS): NaCl 0.9%, pH 7.0 ± 0.2 a 22°C ± 1°C.

MUESTRAS

Debe utilizarse muestras de sangre recogidas con o sin anticoagulante. Si el test no se realiza de inmediato, conservar las muestras a 2-8°C. Las muestras con EDTA o citrato deben ser analizadas en 48 horas. Todas las muestras de sangre deben ser lavadas con PBS al menos dos veces antes de realizar el test. Todas las muestras de sangre que muestren evidencias de lisis pueden dar lugar a resultados no fiables.

PROCEDIMIENTO

A. Método en Tubo

- Preparar una suspensión de hematíes lavados al 2-3% en PBS.
- 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 en Porta
- Preparar una suspensión de hematíes a analizar al 35-45% en suero, plasma o PBS.
 - Depositar en un porta identificado: 1 volumen del reactivo Anti-ABO y 1 volumen de la suspensión de hematíes.
 - Utilizando un stik aplicador limpio, mezclar el reactivo y las células en una área de unos 20 x 40 mm.
 - Inclinar lentamente el portaobjetos de atrás a delante durante 30 segundos, ocasionalmente con un periodo adicional de mezcla de 2 minutos, manteniendo el porta a temperatura ambiente.
 - Leer macroscópicamente tras 2 minutos sobre una luz difusa y no confundir las fibras de fibrina con la aglutinación.
 - Cualquier reacción débil debe ser repetida con la técnica en tubo.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

- Positivo:** La aglutinación constituye un resultado positivo y dentro de las limitaciones aceptadas para el procedimiento de la técnica, indica la presencia apropiada de antígeno ABO en los hematíes.
- Negativo:** La ausencia de aglutinación de hematíes constituye un resultado negativo y dentro de las limitaciones aceptadas para el procedimiento de la técnica, indica la ausencia del antígeno apropiado ABO en los hematíes.
- Los resultados de células que aglutinen con el control negativo deben excluirse, puesto que la aglutinación es probablemente causada por el efecto de los potenciador es macromoleculares del reactivo en células sensibilizadas.

Estabilidad de las reacciones

- Leer los tests realizados directamente tras la centrifugación.
- Los tests en porta deben ser interpretados en 2 minutos 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.
- Los resultados, de tests realizados a temperaturas distintas de las aquí recomendadas, deben ser interpretados con cautela.

LIMITACIONES

- 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.
- 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. Se recomienda pues re-analizar las muestras de subgrupos débiles mediante la técnica en tubo.
- Muestras conservadas pueden dar reacciones más débiles que no muestras frescas.
- 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 aquí mencionados.

6. Cualquier desviación de las técnicas aquí recomendadas debería ser validada antes de su utilización⁹.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

- Los reactivos han sido caracterizados para todos los procedimientos aquí detallados.
- Previamente a su liberación, cada lote de Anti-A y Anti-B monoclonal Reactiva Search es analizado a través de las técnicas aquí recomendadas frente a un panel de hematíes antígenos-positivo, a fin de asegurar la adecuada reactividad.
- La especificidad en origen de los anticuerpos monoclonales está demostrada frente a un panel de hematíes antígenos-negativo.
- Los reactivos Anti-B de Reactiva Search no reaccionan frente a hematíes "B Adquiridos".
- Los reactivos monoclonales ABO de Reactiva Search no detectan antígenos crípticos T, Tn o Cad.
- La potencia de los reactivos ha sido evaluada frente a los siguientes estándares de referencia de potencia mínima, obtenidos del National Institute of Biological Standards and Controls (NIBSC):

- Anti A standard y / o

- Anti B standard

- El Control de Calidad de los reactivos se llevó a cabo utilizando hematíes lavados dos veces en PBS, previa utilización.
- Los reactivos cumplen las recomendaciones de la última versión de las Guías para los Servicios de transfusión de sangre del Reino Unido.

BIBLIOGRAFIA

- Kholer G, Milstein C. Continuous culture of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature 1975; 256, 495-497.
- Race RR, Sanger R. Blood Groups in Man 6th Edition, Oxford, Blackwell Scientific Publishers 1975, Chapter 2.
- Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition, Montgomery Scientific, Miami, 1985, Chapter 10.
- Mollison PL. Blood Transfusion in Clinical Medicine, 8th Edition, Oxford, Blackwell Scientific Publications, 1987, Chapter 7.

PRESENTACIÓN:

CONT. 1X10 ml CODIGO: RSHC-003