

SUERO HEMOAGRUPADOR (Monoclonal) REDIAR® Anti-D Optimum. AGLUTININA DIRECTA

Para uso diagnóstico in vitro

INTRODUCCIÓN

Descrito por primera vez en 1939, el antígeno RhD solamente es superado en importancia por los antígenos del grupo ABO. La transfusión de sangre RhD positiva a un receptor RhD negativo o la omisión de administrar anti-D profiláctico a una madre RhD negativa, puede resultar en una producción de anti-D.

Por lo tanto, determinar el grupo Rh correcto es fundamental para una práctica transfusional segura. Ciertos individuos presentan una disminución cuantitativa en la expresión de su antígeno RhD, siendo clasificados como D débiles o “weak” (Du). Otros presentan una variación cualitativa en la expresión de su antígeno D, siendo conocidos como D parcial. Los individuos D débil también pueden ser D parcial.

La reciente disponibilidad de reactivos anti-D monoclonales IgM potentes, de alta calidad y un mayor conocimiento de la importancia clínica de los fenotipos D parciales, han producido cambios en las políticas de determinación del factor Rh en varios países. Un breve resumen de estas políticas se puede ver en la sección Notas Técnicas de este manual.

REACTIVO

Este reactivo anti D de uso in vitro sirve para la detección e identificación del grupo sanguíneo RhD humano en muestras de donantes y neonatos por medio de aglutinación directa. Este reactivo anti-D Optimum aglutinara de forma directa con la mayoría de los glóbulos rojos que presenten antígenos D, incluyendo DVI.

El componente principal de este reactivo se obtiene del cultivo in vitro de los heterohibridomas humano/murinos LDM1 y ESD1M que secretan IgM contra el antígeno RhD. La formulación incluye EDTA y 1 g/l de azida sódica.

El volumen dispensado por el gotero del envase es de aproximadamente 40 µl. Teniendo esto en cuenta, se deben tomar los recaudos necesarios para asegurar que se mantenga la relación suero:células en todos los sistemas de ensayo.

Este reactivo cumple con las Especificaciones Técnicas Comunes de la Directiva de la Comunidad Europea para Dispositivos Médicos de Diagnóstico In Vitro.

PRECAUCIÓN

La azida sódica es tóxica si se ingiere y también puede reaccionar con las cañerías de plomo y cobre para formar compuestos explosivos.

Este reactivo es para uso diagnóstico in vitro.

EL MATERIAL DE ORIGEN DEL CUAL SE DERIVA ESTE PRODUCTO HA SIDO ENSAYADO Y ENCONTRADO NO REACTIVO PARA HBsAg, ANTI-HIV 1&2 Y ANTI-HCV. NINGÚN MÉTODO CONOCIDO PUEDE OFRECER SEGURIDAD COMPLETA DE QUE LOS PRODUCTOS DERIVADOS DE SANGRE HUMANA NO PUEDAN TRANSMITIR ENFERMEDADES INFECCIOSAS. SE DEBEN TOMAR LOS RECAUDOS APROPIADOS PARA EL USO Y ELIMINACIÓN DE ESTE PRODUCTO.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

Este reactivo debe ser conservado entre 2-8°C. No debe utilizarse si estuviera turbio y no debe diluirse. No utilizar más allá de su fecha de vencimiento.

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Las muestras deben ser obtenidas por una técnica aséptica con o sin anticoagulante. Las muestras deben ser analizadas lo antes posible, una vez obtenidas. Si el análisis se va a demorar, las muestras deberían conservarse entre 2-8°C. Las muestras de sangre que presenten contaminación o hemólisis gruesa no deberían ser utilizadas. Las muestras coaguladas u obtenidas con EDTA deben ser analizadas dentro de los siete días de su recolección. La sangre de donantes puede ser analizada hasta su fecha de vencimiento.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

INFORMACIÓN GENERAL

Este reactivo ha sido estandarizado para el uso mediante las técnicas descriptas a continuación; por lo tanto, su desempeño en el uso mediante otras técnicas no puede ser garantizado. Se recomienda especialmente al usuario confirmar si este reactivo es adecuado antes de utilizarlo en técnicas alternativas.

MATERIALES Y REACTIVOS ADICIONALES NECESARIOS

- PBS pH 7,0± 0,2
- LISS
- Glóbulos rojos reactivos para la determinación del grupo Rh.
- Tubos de ensayos de vidrio 10 o 12 x 75 mm
- Láminas de vidrio
- Reactivo control RhD
- Micropipeta
- Centrífuga

TÉCNICAS RECOMENDADAS

Técnica en tubo-Centrifugación inmediata

1. Colocar 1 volumen de reactivo hemoagrupador a un tubo de ensayo
2. Agregar 1 volumen de glóbulos rojos suspendidos al 2-3% en PBS pH 7,0± 0,2 o al 1,5-2% en LISS
3. Homogeneizar bien la mezcla de reacción
4. Centrifugar a 1000 g por 10 segundos o a otra combinación adecuada de g y tiempo
5. Agitar suavemente el tubo a fin de deshacer el botón celular en el fondo del mismo y observar macroscópicamente si hay aglutinación.

Técnica en tubo – LISS

1. Colocar 1 volumen de reactivo hemoagrupador a un tubo de ensayo
2. Agregar 1 volumen de glóbulos rojos suspendidos al 1,5-2% en LISS
3. Homogeneizar bien la mezcla de reacción e incubar por 15 – 20 minutos a aproximadamente 37°C

4. Centrifugar a 1000 g por 10 segundos o a otra combinación adecuada de g y tiempo
5. Agitar suavemente el tubo a fin de deshacer el botón celular en el fondo del mismo y observar macroscópicamente si hay aglutinación

Técnica en lámina

1. Colocar 1 volumen de reactivo hemoagrupador a un área apropiadamente preparada en una lámina de vidrio
2. Agregar 1 volumen de glóbulos rojos suspendidos al 30-45% en PBS pH 7,0±0,2 o en plasma/suero homólogo.
3. Homogeneizar bien la mezcla de reacción rotando e inclinando la lámina por aproximadamente 30 segundos e incubar la prueba 5 minutos a temperatura ambiente con agitación esporádica.
4. Observar macroscópicamente si hay aglutinación. Esto puede facilitarse observando por sobre una fuente de luz difusa.

CONTROL DE CALIDAD

El control de calidad de los reactivos es esencial, y debe ser llevado a cabo al comienzo de cada jornada de trabajo, con cada serie de determinaciones de grupo Rh y con pruebas individuales, p. ej. un test de compatibilidad de urgencia. Como mínimo se deberían emplear: glóbulos rojos R1r como control positivo, glóbulos rojos rr como control negativo y un "reactivo control" para esta prueba.

Otros tipos de glóbulos rojos pueden llegar a ser utilizados pero deben ser seleccionados con precaución.

Notas Técnicas

Las guías para los servicios transfusionales de sangre del Reino Unido y el comité británico de standard en hematología para bancos de sangre recomiendan los siguientes procedimientos para pruebas del grupo RhD:

Para pruebas de grupo RhD en pacientes, dos reactivos anti D diferentes deben ser utilizados. Ninguno de estos dos reactivos debe aglutinar glóbulos rojos DVI por los métodos recomendados para su uso. Las pruebas de antiglobulina indirecta en muestras que han resultado negativas con la prueba directa, no deben ser utilizadas en pacientes con el propósito de transfusión.

Pruebas en dadores:

Para pruebas de grupo RhD en donantes, aunque no es esencial ni tampoco posible poder detectar todos los fenotipos D débiles y D parciales, sería deseable que las pruebas utilizando dos reactivos diferentes anti D permitan diferenciar entre aquellos donantes que expresan D débil o D parcial de importancia clínica como por ejemplo aquellos DVI, para que sean clasificados como RhD positivos.

- La técnica en portaobjeto no es recomendada para la detección de D débiles o D parciales.
- Ciertas pruebas realizadas con muestras no lavadas o muestras que fueron almacenadas y testeadas a 20 °C o menos pueden exhibir reacción falsa positiva debido a los potenciadores utilizados en la formulación de este reactivo.
- Los bloques secos y los baños de agua proporcionan una mejor transferencia térmica y son recomendables para las pruebas a 37°C, especialmente cuando el periodo de incubación es de 30 minutos o menos.
- Algunas muestras D débiles o D parciales puede que no reaccionen con este reactivo monoclonal anti D, así como tampoco con otra marca de reactivo anti D monoclonal.
- La expresión de ciertos antígenos puede verse disminuida cuando se almacenan las muestras especialmente en EDTA o coaguladas. Siempre se obtienen mejores resultados en muestras frescas.
- Las pruebas deben ser leídas utilizando la técnica "tip and roll". Una agitación excesiva puede disgregar una aglutinación débil formada dando resultados falsos negativos.
- Es muy importante utilizar la velocidad de centrifugación recomendada ya que una velocidad mayor puede ocasionar una gran dificultad al intentar resuspender el botón celular, mientras que una velocidad menor puede ocasionar una aglutinación fácilmente dispersable.
- Resultados falsos negativos y falsos positivos pueden deberse a contaminación de las muestras, temperatura de reacción inapropiada, almacenamiento inapropiado de los materiales utilizados, omisión de algún reactivo de prueba y ciertas enfermedades infecciosas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Levine P, Stetson RE. An unusual case of intragroup agglutination. J Amer Med Assoc 1939; 113: 126-127.
2. Mollison PL Blood transfusion in clinical medicine. 7th edition. Oxford: Blackwell Scientific, 1983.
3. Moore BPL. Serological and immunological methods of the Canadian Red Cross Blood Transfusion Service. 8th edition. Toronto: Hunter Rose, 1980.
4. Vengelen V., ed. Technical manual. 13 th edition. Bethesda: American Association of Blood Banks, 1999.
5. Race RR and Sanger R. Blood groups in man. 6th edition. Oxford: Blackwell Scientific, 1975.
6. White WD, Issitt CH, McGuire D. Evaluation of the use of albumin controls in Rh phenotyping. Transfusion 1974; 14: 67-71.



ELABORADO POR: Diagnostics Scotland Ellens Glen Road.
Edinburgh, EH 17 7QT. Escocia
IMPORTADO Y FRACCIONADO POR: FELSAN S.R.L. Palpa 3811,
(C1427EBF) Ciudad Aut. de Bs. As. Argentina.
Dir. Técnico: Roque Luis Espinosa.
Consultas Técnicas: 011-4554-799 laboratorio@felsan.com.ar

