



Técnicas de Uso



-INDICE-

ALBÚMINA BOVINA AL 30%	13
CONTROL-TEST ANTI-D (ANTI-RH I)	7
PAPAÍNA LIOFILIZADA	14
SOLUCIÓN DE BAJA FUERZA IÓNICA "LISS DOPE"	12
SUERO ANTIGLOBULINA HUMANA	10
SUERO- TEST ANTI-D (ANTI-RH I)	5
SUEROS TEST ANTI C,c,E,e,CDE,K	9
SUEROS-TEST ANTI-A, ANTI-B, ANTI-A + B	3
SUERO-TEST ANTI-A1 // ANTI-H	8
SUERO-TEST ANTI-D (ANTI-RH I)	6
SUERO-TEST ANTI-D (ANTI-RH1)	4



GRUPOS SANGUÍNEOS ABO Y RHEBUS STANDARD

SUEROS-TEST ANTI-A, ANTI-B, ANTI-A + B (MONOCLONALES de origen murino)

Anti-A (10 ml) : 174D1010 Anti-B (10 ml) : 174D1020 Anti-A+B (10 ml) : 174D1030

CONSERVACION

Sueros-test monoclonales

La fecha de caducidad, indicada sobre la etiqueta concierne al reactivo liofilizado y conservado a + 4 °C.

Identificación de los clones:

Especificidad	Serie1	Serie2
ANTI-A	26A2	Birma-1
ANTI-B	B2A22	ES-4
ANTI A-B	S18+S19+S20	Birma1+ES4+ES15

PRINCIPIO DE AGRUPAMIENTO

El agrupamiento ABO se efectúa obligatoriamente con dos test complementarios:

El test globular (BETH VINCENT): Consiste en poner en presencia sueros-test conocidos (Anti-A, Anti-B, Anti- A+B) con los glóbulos rojos a analizar para identificar el o los antígenos que llevan : A, B, A y B o ninguno de los dos.

El test sérico (SIMONIN): Consiste en poner en presencia el suero a tipificar y los glóbulos-test conocidos: A1, A2 B y O. Permite investigar aglutininas naturales Anti-A y/o Anti-B presentes en el suero.

BETH-VICENT			SIMONIN				GRUPO
Anti-A	Anti-B	Anti-A+B	GR A1	GR A2	GR B	GR 0	
+	-	+	-	-	+	-	A
-	+	+	+	+	-	-	B
+	+	+	-	-	-	-	AB
-	-	-	+	+	+	-	0

La concordancia de los resultados entre el test globular y el test sérico es imprescindible. En caso de discrepancia o de dificultad de Inter-pretación, hay que repetir el test globular con la ayuda de los hematíes a investigar lavados tres veces, y recurrir a los tres tipos de controles clásicos:

- "auto": suero del paciente a tipificar dirigido contra sus propios hematíes lavados
- " AB": suero AB dirigido contra los hematíes a tipificar
- "allo": suero del paciente a tipificar contra una línea de hematíes 0.

Una reacción negativa en estos tres controles, en caso de anomalía de los resultados iniciales, indica generalmente un grupo raro pero normal.

Una reacción positiva en, al menos, uno de estos controles implica un fenómeno pato-lógico que necesita ser analizado.

Toma de muestras

La sangre puede ser recogida con EDTA o no. Necesita ser testada lo más rápidamente posible (no tardar más de 48 horas). Si es necesario, la muestra será conservada a + 4°C.

USO DE LOS SUEROS- TEST ANTI-A, ANTI-B, ANTI-A+B

1) Método sobre placa

Sobre una placa de opalina limpia y seca, depositar de izquierda a derecha: 50 µl de cada suero test Anti-A, Anti-B y Anti-A + B.

Al lado de cada una de las tres gotas de suero-test añadir 50 µl de hematíes del paciente a tipificar en suspensión del 10 % en su propio suero o en solución salina (NaCl 0,9 %).

Mezclar los hematíes y los sueros con un palillo aplicador limpio hasta obtener un círculo de 2 cm de diámetro. SECAR CUIDA-DOSAMENTE EL PALILLO ENTRE CADA MEZ-CLA PARA EVITAR LAS CONTAMINACIONES DE UNA SERIE A OTRA.

Hacer oscilar ligeramente la placa a fin de facilitar la aglutinación que debe producirse en menos de 30 segundos. Esta puede aparecer a los 3 minutos para los antígenos A y B débiles. **2) Método en tubo a 22°C**

Preparar una suspensión al 5 % de hematíes del paciente a tipificar en su propio suero o en solución salina.

Depositar en tres tubos de hemólisis 50 µl de esta suspensión globular, después 100 µl de suero-test Anti-A en el primero, 100 µl de suero-test Anti-B en el segundo y 100 µl de suero-test Anti-A+B en el tercero.

Mezclar con una ligera agitación y centrifugar un minuto a 1000 rpm.

La reacción es observada macroscópicamente (o microscópicamente) sobre un fondo blanco tras despegarse de la pastilla globular. Si los hematíes se despegan en uno o varios bloques la reacción es positiva. Si la agitación vuelve a formar una suspensión homogénea, la reacción es negativa.

GRUPOS SANGUÍNEOS ABO Y RHESUS STANDARD



SUERO-TEST ANTI-D (ANTI-RH1) (MONOCLONAL IgG ALBUMINOSO HUMANO)

Anti-D (Rh) (10 ml) : 174D1040

El anticuerpo monoclonal Anti-D es una inmunoglobulina de tipo IgG.

Identificación del clon : LORI

CONSERVACION

La fecha de caducidad, indicada sobre la etiqueta pertenece al suero-test conservado entre +2°C y + 4°C.

PRINCIPIO DE AGRUPAMIENTO

La determinación del grupo sanguíneo Rhesus estándar consiste en evidenciar el antígeno Rh 1 (o D) en la superficie del glóbulo rojo. En la población europea, el 85% de los individuos tienen el antígeno RH 1 y son clasificados Rhesus positivo, mientras que un 15% no lo tienen y son clasificados Rhesus negativo. Cualquier individuo automáticamente identificado Rhesus débil debe ser considerado como Rhesus positivo.

TOMA DE MUESTRAS

La sangre puede ser recogida con EDTA o no. Necesita ser testada lo más rápidamente posible (no tardar más de 48 horas). Si es necesario, la muestra será conservada a + 4 °C.

TECNICAS DE USO

1) Técnica sobre placa calentada a 40-C

Preparar una suspensión concentrada (30-50%) de los glóbulos rojos a investigar en su propio suero o plasma.

Depositar lado a lado sobre la placa iluminada y calentada 40° C de un aglutinoscopio, 50 µl de suero-test Anti-D y 50 µl de la suspensión globular a investigar.

Mezclar todo con un palillo aplicador limpio, hasta obtener un círculo de 2 cm de diámetro aproximadamente. Guardar un espesor suficiente de líquido para evitar una desecación demasiado rápida.

Agitar suavemente la placa sobre su aglutinoscopio con un movimiento lento durante dos minutos.

Observar si se produce una aglutinación (los primeros aglutinados aparecerán en la periferia del círculo).

2) Técnica en tubo a 22-°C

Depositar en el fondo del tubo 50 µl del suero test Anti-D .

Añadir 50 µl de los glóbulos a investigar, previamente lavados en suero fisiológico y puestos en suspensión al 3-5 % en medio sérico.

Centrifugar 1 minuto a 1000 rpm.

Lectura macroscópica (o microscópica) después de una agitación suave.

3) Test de Coombs indirecto (para determinación de los D débiles)

Depositar en el fondo de un tubo de Kahn 100 µl de suero-test Anti-D y 50 µl de suspensión de los glóbulos a investigar previamente lavados diluidos al 3-5 % en suero fisiológico.

Incubar al baño maría a 37°C durante 45 min.

Lavar la pastilla globular en suero fisiológico.

Decantar y añadir 100 µl de suero antiglobulina polivalente o anti-IgG (Institut Jacques Boy).

Agitar suavemente para poner los hematíes en suspensión. Centrifugar 1 minuto a 750 G (2200 rpm).

Lectura macroscópica (o microscópica) después de una agitación suave.

PRECAUCIONES IMPORTANTES

1) Para evitar fenómenos de desecación, no utilizar un aglutinoscopio demasiado caliente.

2) Cualquier determinación del grupo Rhesus obliga a hacer en paralelo la reacción control, usando en la misma técnica el reactivo alburninoso (control alburninoso para suero-test policlonal Institut Jacques Boy).

El agrupamiento Rhesus sólo puede ser interpretado cuando la reacción control es negativa.

3) En caso de discrepancia de los resultados entre las dos determinaciones obligatorias, hay que sospechar la presencia de un antígeno D débil (que podrá ser evidenciado por test de Coombs indirecto, usando un suero test anti-D de tipo IgG Institut Jacques Boy ó por una prueba de fijación / elución

GRUPOS SANGUÍNEOS ABO Y RHESUS STANDARD



SUERO- TEST ANTI-D (ANTI-RH I) MONOCLONAL IgM SALINO HUMANO

Anti-D (Rh) (10 ml) : 174D1050

Control

El anticuerpo monoclonal Anti-D es una inmunoglobulina de tipo IgM en solución salina.

Identificación del clon : Na m 28-3 C 11.

CONSERVACION

La fecha de caducidad, indicada sobre la etiqueta pertenece al suero-test conservado entre +2°C y + 4°C.

PRINCIPIO DE AGRUPAMIENTO

La determinación del grupo sanguíneo Rhesus estándar consiste en evidenciar el antígeno Rh 1 (o D) en la superficie del glóbulo rojo. En la población europea, el 85% de los individuos tienen el antígeno RH 1 y son clasificados Rhesus positivo, mientras que un 15% no lo tienen y son clasificados Rhesus negativo. Cualquier individuo automáticamente identificado Rhesus débil debe ser considerado como Rhesus positivo.

TOMA DE MUESTRAS

La sangre puede ser recogida con EDTA o no. Necesita ser testada lo más rápidamente posible (no tardar más de 48 horas). Si es necesario, la muestra será conservada a + 4 °C.

TECNICAS DE USO

1. Técnica sobre placa a 22-C

Preparar una suspensión concentrada (al 30-50 %) de los glóbulos rojos a investigar en su propio suero, o plasma, o suero fisiológico (NaCl 0,9 %)o

Depositar lado a lado (50 µl de suero-test Anti-D y 50 µl de la suspensión globular a investigar o

Mezclar todo con un palillo aplicador limpio, hasta obtener un círculo de 2 cm de diámetro más o menos. Guardar un espesor suficiente de líquido para evitar una desecación demasiado rápida.

Agitar suavemente la placa sobre su aglutinoscopio con un movimiento lento durante dos minutos.

Observar si se produce una aglutinación (los primeros aglutinados aparecen en la periferia del círculo).

2. Técnica en tubo de Kahn a 22-C.

Preparar una suspensión al 5 % de hematíes del paciente a tipificar en su propio suero o en solución salina, depositar en el fondo de un tubo de hemólisis 50 µl de esta suspensión globular, después 50 µl de suero-test Anti-D monoclonal salino.

Mezclar con una ligera agitación.

Centrifugar un minuto a 1000 rpm.

La reacción es observada macroscópicamente sobre un fondo blanco después de una agitación suave, para despegar la pastilla globular. Si los hematíes se despegan en uno o varios bloques, la reacción es positiva. Si la agitación vuelve a formar una suspensión homogénea, la reacción es negativa.

PRECAUCIONES IMPORTANTES

Cualquier determinación del grupo Rhesus obliga a hacer en paralelo la reacción control, usando en la misma técnica el reactivo albuminoso (control albuminoso para suero-test policlonal Institut Jacques Boy). El agrupamiento Rhesus solo puede ser interpretado cuando la reacción control es negativa.

GRUPOS SANGUÍNEOS ABO Y RHESUS STANDARD



SUERO-TEST ANTI-D (ANTI-RH I) MONOCLONAL IgG+IgM COMBINADO SALINO HUMANO

Anti-D (Rh) (10 ml) : 174D1050

Control

El anticuerpo monoclonal Anti-D es una inmunoglobulina de tipo IgM en solución salina.

Identificación del clon : Na m 28-3 C 11.

Especificidad ANTI-D IgG-g + IgM	CLON MS26 +TH28
---	----------------------------

CONSERVACION

La fecha de caducidad, indicada sobre la etiqueta pertenece al suero-test conservado entre +2°C y + 4°C.

PRINCIPIO DE AGRUPAMIENTO

La determinación del grupo sanguíneo Rhesus estándar consiste en evidenciar el antígeno Rh 1 (o D) en la superficie del glóbulo rojo. En la población europea, el 85% de los individuos tienen el antígeno RH 1 y son clasificados Rhesus positivo, mientras que un 15% no lo tienen y son clasificados Rhesus negativo. Cualquier individuo automáticamente identificado Rhesus débil debe ser considerado como Rhesus positivo.

TOMA DE MUESTRAS

La sangre puede ser recogida con EDTA o no. Necesita ser testada lo más rápidamente posible (no tardar más de 48 horas). Si es necesario, la muestra será conservada a + 4 °C.

TECNICAS DE USO

1. Técnica sobre placa a 22-C

Preparar una suspensión concentrada (al 30-50 %) de glóbulos rojos a investigar en su propio suero, o plasma, o suero fisiológico (NaCl 0,9 %).

En un porta-objetos de cristal limpio depositar lado a lado 50 µl de suero-test Anti-D y 50 µl de la suspensión globular a investigar .

Mezclar todo con un palillo aplicador limpio, hasta obtener un círculo de 2 cm de diámetro más o menos. Agitar suavemente el porta con un movimiento lento durante dos minutos y leer.

Observar si se produce una aglutinación (los primeros aglutinados aparecen en la periferia del círculo).

2. Técnica en tubo de Kahn a 22-C.

Preparar una suspensión al 3-5 % de hematíes del paciente a tipificar en solución salina, depositar en el fondo de un tubo de hemólisis 50 µl de esta suspensión

GRUPOS SANGUÍNEOS ABO Y RHESUS STANDARD

globular, después 50 µl de suero-test Anti-D monoclonal salino.

Mezclar con una ligera agitación.

Centrifugar un minuto a 125 g (aproximadamente 1000 rpm)

La reacción puede ser observada macroscópicamente ó microscópicamente sobre un fondo blanco después de una agitación suave, para despegar la pastilla globular. Si los hematíes se despegan en uno o varios bloques, la reacción es positiva. Si la agitación vuelve a formar una suspensión homogénea, la reacción es negativa.

3) Test de Coombs indirecto (para determinación de Ag D débiles)

Depositar en el fondo de un tubo 100 µl de suero-test Anti-D (IgG+ IgM)y 50 µl de suspensión de los glóbulos a investigar previamente lavados diluidos al 3-5 % en suero fisiológico.

Incubar al baño maría a 37°C durante 15 min.

Lavar la pastilla globular en suero fisiológico 3 veces.

Decantar y añadir 100 µl de suero antiglobulina polivalente o anti-IgG (ref: 174D1100).

Agitar suavemente el tubo para resuspender los hematíes y . Centrifugar 1 minuto a 750 G (2200 rpm).

Lectura macroscópica (o microscópica) después de una agitación suave. Si tras la mezcla, el botón eritrocitario se transforma en una suspensión homogénea, la reacción es NEGATIVA. Verificar la negatividad de la reacción empleando Control Negativo (ref 174D1070) en otro tubo paralelo en sustitución del Anti-D IgG+IgM

PRECAUCIONES IMPORTANTES

Cualquier determinación del grupo Rhesus obliga a hacer en paralelo la reacción control, usando en la misma técnica el control salino (ref: 174d1070). El grupo Rhesus solo puede ser interpretado cuando la reacción control es negativa.

PRECAUCIONES DE USO

Todos los productos de origen humano han sido tratados frente al HIV 1+2 y HCV dando resultados negativos, no obstante, se recomienda tratar el material, como productos potencialmente peligrosos.

GRUPOS SANGUÍNEOS ABO Y RHESUS STANDARD



CONTROL-TEST ANTI-D (ANTI-RH I) SOLUCIÓN SALINA NEGATIVA

Control Anti-D (Salino) (10 ml) : 174D1070

CONSERVACION

La fecha de caducidad, indicada sobre la etiqueta pertenece al control-test conservado entre +2°C y + 4°C.

PRINCIPIO DE AGRUPAMIENTO

La determinación del grupo Rhesus estándar, debe de ser realizada en compañía de un test de control. El tipaje del Grupo Rh solo será validado cuando el test de control da un resultado NEGATIVO.

TOMA DE MUESTRAS

La sangre puede ser recogida con EDTA o no. Necesita ser testada lo más rápidamente posible (no tardar más de 48 horas). Si es necesario, la muestra será conservada a + 4 °C.

TECNICAS DE USO

1. Técnica en porta a 22°C

Preparar una suspensión concentrada (al 30-50 %) de glóbulos rojos a investigar en su propio suero, o plasma, o suero fisiológico (NaCl 0,9 %).

En un porta-objetos de cristal limpio depositar lado a lado (50 µl de Control-test Anti-D y 50 µl de la suspensión globular a investigar).

Mezclar todo con un palillo aplicador limpio, hasta obtener un círculo de 2 cm de diámetro más o menos. Agitar suavemente el porta con un movimiento lento durante dos minutos y leer.

Verificar la negatividad de la reacción. Si la Reacción no fuera negativa, NO podrá interpretarse el tipaje Rh realizado.

2. Técnica en tubo de Kahn a 22-C.

Preparar una suspensión al 3-5 % de hematíes del paciente a tipificar en solución salina, depositar en el fondo de un tubo de hemólisis 50 µl de esta suspensión globular, después 50 µl de Control-test Anti-D I salino.

Mezclar con una ligera agitación.

Centrifugar un minuto a 125 g (aproximadamente 1000 rpm)

La reacción puede ser observada macroscópicamente ó microscópicamente sobre un fondo blanco después de una

agitación suave, para despegar la pastilla globular. Verificar la Negatividad de la Reacción: tras la agitación vuelve a formar una suspensión homogénea, Si la Reacción no fuera negativa, NO podrá interpretarse el tipaje Rh realizado.

LIMITACIONES

El Control Negativo salino deberá de ser realizado en cada determinación del tipaje estándar de grupo Rh conjuntamente con el Anti-D test (IgM) o Anti-D test (IgG+IgM) ó con reactivos monoclonales para Rh o Kell.

GRUPOS SANGUÍNEOS ABO Y RHESUS STANDARD



SUERO-TEST ANTI-A1 // ANTI-H ORIGEN VEGETAL

Anti-A1 (10 ml) :174D1170

Anti-H

(10 ml) :174D1160

ORIGEN

Algunos extractos de origen vegetal o animal muestran una actividad de aglutinación específica. Son llamados normalmente lectinas, se tratan de moléculas vegetales capaces de unirse con antígenos o fracciones antigénicas presentes en la membrana de hematíes humanos, en general a un azúcar Inmuno-dominante.

El anti-A1 vegetal, es elaborado a partir de Dolichos biflorus, reconoce el N-acetil-D-galactosamina (especificidad A, Tn).

El anti-H vegetal es elaborado a partir de Ulex europaeus, y reconoce el azúcar L-fucosa (especificidad H).

CONSERVACION

La fecha de caducidad, indicada sobre la etiqueta pertenece al suero-test conservado entre +2°C y + 4°C.

PRINCIPIO DE AGRUPAMIENTO

La determinación de los fenotipos A1 y A2 se hace de una manera empírica y simple. Los glóbulos rojos A1 son aglutinados por la lectina de Dolichos biflorus convenientemente diluida (Anti-A1) y no son prácticamente aglutinados por la lectina de Ulex europaeus previamente diluida (Anti-H).

Al contrario los hematíes A2 no son prácticamente aglutinados por la lectina de Dolichos biflorus diluida (Anti-A1) y lo son por la lectina de Ulex europaeus (Anti-H).

TOMA DE MUESTRAS

La sangre puede ser recogida con EDTA o no. Necesita ser testada lo más rápidamente posible (no tardar más de 48 horas). Si es necesario, la muestra será conservada a + 4 °C.

TECNICAS DE USO

1. Técnica en porta

Sobre una placa limpia y seca, depositar 50 µl de suero test anti-A1 y Anti-H. Añadir 50 µl de hematíes del paciente a tipificar en suspensión al 10 % en su propio suero o en solución salina. Mezclar los hematíes y los sueros con un palillo aplicador limpio hasta obtener un círculo de 2 cm de diámetro.

SECAR CUIDADOSAMENTE EL PALILLO ENTRE CADA MEZCLA PARA EVITAR LAS CONTAMINACIONES DE UNA SERIE A OTRA.

Hacer oscilar ligeramente la placa de opalina para facilitar la aglutinación. Notar la rapidez, la intensidad y el aspecto de los aglutinados obtenidos después de un minuto.

1. Método en tubo a 22°C

Preparar una suspensión al 5 % de hematíes del paciente a tipificar en su propio suero o en solución salina.

En un tubo de hemólisis, depositar 100 µl de suero-test Anti-A1 o Anti-H y 50 µl de la suspensión de hematíes.

Mezclar con una ligera agitación y dejar incubar 5 minutos a 22°C. (temperatura ambiente)

Centrifugar un minuto a 1000 rpm.

La reacción es leída macroscópicamente sobre un fondo blanco después de una agitación suave, para despegar la pastilla globular. Si los hematíes se despegan en uno o varios bloques, la reacción es positiva. Si la agitación vuelve a formar una suspensión homogénea, la reacción es negativa.

LIMITACIONES

Suero-test Anti-A1 :

La aglutinación de los hematíes A1 y A1B es rápida e intensa. Es posible observar una aglutinación no específica: en ese caso los aglutinados entonces son finos y tardan en aparecer. No se debe pues tomar en cuenta los aglutinados débiles que aparezcan después de un minuto.

Suero test Anti-H :

La aglutinación de los hematíes O y A2B es rápida e intensa. Es posible observar una aglutinación de los hematíes A1 y A1B: en ese caso, los aglutinados entonces son finos y tardan en aparecer. No se debe pues tomar en cuenta los aglutinados débiles que aparecen después de un minuto.



FENOTIPAJE Rhesus y KELL



REACTIVOS MONOCLONALES ANTI C, c, E, e, CDE, K (origen humano) (para uso In Vitro)

REFERENCIA	ESPECIFICIDAD	CLON	PRESENTACIÓN
174D1063	ANTI- C (GRANDE)	MS24	5 ML
174D1175	ANTI- c (PEQUEÑA)	MS33	5 ML
174D1185	ANTI- E (GRANDE)	MS80 + MS258	5 ML
174D1195	ANTI- e (PEQUEÑA)	MS16 + MS21 +MS63	5 ML
174D1205	ANTI- K (KEL1)	MS56	5 ML
174D1520	ANTI- CDE	MS24+MS201+MS26 +MS80	5 ML
174D1070	CONTROL NEGAT. SAL.		10 ML

CONSERVACION

Los reactivos monoclonales son del tipo IgM. La fecha de caducidad está indicada sobre la etiqueta corresponde al suero-test conservado entre +2°C y + 4°C.

PRINCIPIO DE AGRUPAMIENTO

Para un más completo Sero-tipaje del fenotipo Rhus o del antígeno Kell se emplean los siguientes reactivos:

- Anti-C (para detección del Antígeno C (Rh2)
- Anti-c (para detección del Antígeno c (Rh4)
- Anti-E (para detección del Antígeno E (Rh3)
- Anti-e (para detección del Antígeno e (Rh5)
- Anti-K (para detección del Antígeno K (KEL1)

TOMA DE MUESTRAS

La sangre puede ser recogida con EDTA o no. Necesita ser testada lo más rápidamente posible (no tardar más de 48 horas). Si es necesario, la muestra será conservada a + 4 °C.

TECNICAS DE USO

1. Técnica en porta a 22°C

Sobre una placa limpia y seca, depositar 50 µl del reactivo monoclonal a testar.

Añadir 50 µl de sangre total del paciente o 20 µl de un concentrado de hematíes.

Mezclar los hematíes y los sueros con un palillo aplicador limpio hasta obtener un círculo de 2 cm de diámetro.

Hacer oscilar ligeramente la placa, pasado 2 minutos observar la presencia o no de aglutinación.

1. Método en tubo a 22°C

Preparar una suspensión al 3-5 % de hematíes del paciente a tipificar en solución salina.

En un tubo de hemólisis, depositar 50 µl de suero-test monoclonal.

Centrifugar un minuto a 1000 rpm. (125g)

La reacción es leída macroscópicamente sobre un fondo blanco después de una agitación suave, para despegar la pastilla globular. Si los hematíes se despegan en uno o varios bloques, la reacción es positiva. Si la agitación vuelve a formar una suspensión homogénea, la reacción es negativa.

LIMITACIONES

Cada determinación del fenotipo Rhesus o deberá de haber sido realizado de manera conjunta con el control salino (ref: 174d1070).

El grupo Rhesus solo podrá ser interpretado cuando la reacción sobre el control es negativa.

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS IRREGULARES



SUERO ANTIGLOBULINA HUMANA POLIESPECÍFICO para test directo e indirecto (para uso In Vitro)

REFERENCIA	producto	PRESENTACIÓN
174D1100	Antiglobulina Humana Poliespecifica	10 ML
174D1110	ANTI- IgG	10 ML

ORIGEN:

Antiglobulina humana Poli especifica

Suero de origen animal obtenidos mediante la inmunización en sueros de conejo o cabra con Gamma-G e inmunoglobulinas complementarias. Son elaboradas a partir de varias muestras de animales permitiendo aglutinar hematíes cubiertos por anticuerpos IgG o por anticuerpos de fijación del Complemento. Permite la detección de anticuerpos fijados in vivo (test directo con antiglobulina) o in Vitro (test indirecto con antiglobulinas).

Antiglobulina humana Anti-IgG

Suero de origen animal obtenido mediante inmunización en sueros de conejo o cabras con Inmunoglobulinas Humanas Gamma-G. Son elaboradas a partir de varias muestras de animales. Aglutinan solamente hematíes con alo o auto anticuerpos del tipo IgG.

CONSERVACION

La fecha de caducidad está indicada sobre la etiqueta cuando es conservado entre +2°C y + 4°C. Puede ser también congelado a -20°C

PRINCIPIO

El test directo con antiglobulinas debe de ser realizado para la detección de anticuerpos en hematíes "In vivo" en:

- Enfermedad hemolítica del recién nacido.
- Enfermedad hemolítica Auto-inmune.
- Anemias hemolíticas causadas por drogas.
- Accidentes transfusionales.

El test Indirecto con antiglobulinas debe de ser realizado para detección anticuerpos en hematíes "in Vitro" en:

- Screenig e identificación de Alo o auto anticuerpos.
- pruebas cruzadas entre receptor y donante de sangre
- fenotipaje de hematíes después de una sensibilización con Sueros Test, de acuerdo con las indicaciones del fabricante del reactivo.

TECNICAS DE USO

1. TEST DIRECTO CON ANTIGLOBULINA

Lavar 6 veces en suero fisiológico los hematíes a estudiar para eliminar las globulinas plasmáticas que podrían neutralizar la antiglobulina y prevenir la reacción de anticuerpos fijados sobre los hematíes. Preparar una suspensión globular del 2-5 % en suero fisiológico de los hematíes lavados.

Depositar en el tubo de hemólisis :

- 50 µl de la suspensión globular
- 100 µl de suero antiglobulinas(174D1100//1110).

Agitar suavemente el tubo.

Centrifugar 1 mint. a 750 G (2200 rpm).

Leer a simple vista las reacciones sobre una superficie iluminada o sobre un espejo cóncavo o, si es necesario, después de una exposición sobre lámina al microscopio.

Resultados:

La reacción es positiva si la pastilla globular se despegas en una o varias pilas distintas.

La reacción es negativa cuando los hematíes forman de nuevo en suspensión homogénea.

Sobre la reacción negativa, añadir 50 µl de control positivo de Coombs y después centrifugar 1 minuto a 750 G (2200 rpm).

La presencia de aglutinación validará la reacción negativa.

Las reacciones hay que interpretarlas en función de los controles (Ver punto 3)

2. TEST INDIRECTO CON ANTIGLOBULINA

Lavar los hematíes 3 veces en suero fisiológico.

Preparar una suspensión globular al 3-5 % en suero fisiológico.

Depositar en el tubo de hemólisis :

- 50 µl de la suspensión globular al 5%
- 100 µl de suero a estudiar.

Incubar al baño Maria a 37°C durante 45 minutos.

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS IRREGULARES

Lavar 3 veces la pastilla globular en suero fisiológico.
Después de la última decantación añadir:

- 100 µl de suero antiglobulinas (174D1100//1110).

Agitar suavemente el tubo para resuspender la pastilla globular. Centrifugar 1 min. A 750g (2.200 rpm)
>>>>

Lectura macroscópica sobre una superficie iluminada o de un espejo, si es necesario, lectura macroscópica después de una exposición sobre lámina.

Resultados :

Agitar suavemente el tubo para despegar el botón globular

La reacción es positiva si la pastilla globular se despega en una o varias pilas distintas.

La reacción es negativa cuando los hematíes forman de nuevo en suspensión homogénea.

Sobre la reacción negativa, añadir 50 µl de control positivo de Coombs y después centrifugar 1 minuto a 750 G (2200 rpm).

La presencia de aglutinación validará la reacción negativa.

Las reacciones hay que interpretarlas en función de los controles (Ver punto 3)

3-REACCIONES CON CONTROLES:

Control sueros antiglobulinas :

a) Control positivo: hacer un test de Coombs indirecto sobre un suero con anticuerpos conocidos (por ejemplo suero Anti-D ref 174D1050) y hematíes que contengan el antígeno correspondiente (hematíes D).

b) Control negativo: hacer un test de Coombs indirecto sobre un suero con anticuerpo conocido (suero anti-D ref 174D1050 por ejemplo) y hematíes desprovistos del antígeno correspondiente (hematíes D). Estos controles positivos y negativos controlan la actividad y la especificidad del suero antiglobulinas.

Controles autoanticuerpos o poliaglutinabilidad:

- Sustituir el suero antiglobulinas por suero AB (ref 174D1040). Este control debe mostrarse negativo.

- Sustituir el suero antiglobulinas por suero fisiológico. Este control debe quedarse negativo.

Control para fenotipaje utilizando el test indirecto (Coombs indirecto) con antiglobulinas:

. Realizar los controles positivos y negativos recomendados en la información técnica correspondientes a los diferentes sueros-test.



DETECCIÓN DE ANTICUERPOS IRREGULARES

SOLUCIÓN DE BAJA FUERZA IÓNICA "LISS DOPE" para test indirecto con Antiglobulinas (para uso In Vitro)

REFERENCIA	producto	PRESENTACIÓN
174D1190	Sol. LISS DOPE	10 ML

CONSERVACION

La fecha de caducidad está indicada sobre la etiqueta cuando es conservado entre +2°C y + 4°C.

PRINCIPIO

La solución de Liss "dopé" IJB es utilizada como medio para poner en suspensión los glóbulos rojos cuando se realiza la reacción con antiglobulinas. Activan la unión de anticuerpos anti-eritrocitarios y al mismo tiempo permite la reducción del tiempo de sensibilización de la reacción y por tanto, de la prueba reduciendo el tiempo de incubación de 45 minutos a 15 minutos).

La solución de Liss dopé IJB es una variante de la solución de baja fuerza iónica clásica. Sus propiedades de sensibilización de los resultados del test con antiglobulinas han sido obtenidas gracias a una formulación especialmente estudiada por el Institut Jacques Boy.

TECNICAS DE USO

1. PREPARACIÓN DE LOS HEMATÍES:

Lavar los hematíes dos veces en solución Salina y una vez en solución de baja fuerza iónica. Este último lavado es necesario si sobre el botón globular se mantuviera alguna concentración de sol. Salina.

Preparar una suspensión de hematíes al 2-3 % en la solución LISS DOPE de baja fuerza iónica (Ref 174D1190) empleando una proporción de 49 gotas de LISS DOP y 1 gota del botón globular.

REACCIÓN:

En tubos de hemólisis añadir:

- 2 gotas de suero (100 µl)
- 2 gotas de suspensión globular al 2-3% en LISS DOPE.

-Incubar durante 10-15 minutos en un Baño M^a a 37°C (nunca menos de 10 mint)

-Lavar 3 veces en solución Salina (NaCl 0.9%).

-Decantar cuidadosamente el última solución de lavado.

-Añadir 2 gotas de suero antiglobulina poli-específica(ref: 174D1100) o Suero antiglobulina anti-IgG (174D1110) sobre el botón plaquetario.

-Mezclar suavemente para resuspender el botón globular, centrifugar durante 1 minuto a 2200 rpm (750 g).

-Leer los resultados macroscópicamente después de despegar el botón globular del tubo y microscópicamente una vez distribuido sobre un porta.

2.PROCEDIMIENTO A PARTIR DE HEMATÍES LAVADOS EN SUSPENSIÓN 3-5% LISTOS PARA SU USO.

Realizar el mismo procedimiento que el existente para la prueba indirecta con antiglobulinas:

- 50 µl de solución de hematíes test
- 100 µl de LISS
- 100 µl de suero que va a ser testado.

Los procedimientos siguientes son los mismos que los empleados en la técnica clásica , pero reduciendo el tiempo de incubación a 15 minutos en lugar de 45 mint (ver punto 1)

PRECAUCIONES DE USO:

Realizar siempre las pruebas empleando un control Positivo y negativo para la detección de aglutininas irregulares. Hacer un autocontrol con suero y hematíes del paciente.

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS IRREGULARES



ALBÚMINA BOVINA AL 30% (para uso In Vitro)

REFERENCIA	producto	PRESENTACIÓN
174D1200	ALBÚMINA BOVINA 30%	10 ML

CONSERVACION

La fecha de caducidad está indicada sobre la etiqueta cuando es conservado entre +2°C y + 4°C.

PRINCIPIO

La Albúmina bovina al 30% potencia la reacción Antígeno Este producto favorece la fijación de las IgG debido a la reducción del potencial ZETA incrementando así la aglutinación Recomendamos el uso de Albúmina bovina al 30% para la detección e identificación anticuerpos irregulares y en casos de estudio de compatibilidad transfusional.

TECNICAS DE USO

1. DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS IRREGULARES:

- Preparar Un tubo para cada grupo de hematíes test y numerarlos como I,II,III....
- Poner 100 µl de suero a ensayar en cada tubo,
- Añadir en cada tubo identificado 50 µl de hematíes en una suspensión al 3-5% en solución salina.
- Añadir a cada tubo 100µl de Albúmina bovina al 30% (ref 174D1200).
- Mezclar el contenido de cada tubo.
- Incubar 15 minutos a 37°C en un Baño termostático.

- Centrifugar durante 1 minuto a 125 g (1000 rpm).
- Proceder a su lectura tras usa suave agitación.

2. TEST DE COMPATIBILIDAD TRANSFUSIONAL (PRUEBAS CRUZADAS).

- Preparar una suspensión de hematíes del donante al 3-5% en solución salina (CINa 0.9%).
- Poner en un tubo de hemólisis 100 µl de suero del receptor.
- Añadir 50 µl de la suspensión de hematíes del donante.
- Añadir 100 µl de Albúmina bovina al 30% (ref 174D1200).
- Mezclar el contenido del tubo.
- Incubar a 37°C durante 15 minutos en un baño termostático.
- Centrifugar 1 minuto a 100g (1000 rpm).
- Proceder a su lectura tras una suave agitación.

LIMITACIONES:

La Albúmina bovina al 30% mejora la fijación de anticuerpos del tipo IgG, pero no de todos los tipos de anticuerpos. Para validar los resultados deberán de realizarse simultáneamente controles positivos y negativos.

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS IRREGULARES

PAPAÍNA LIOFILIZADA: ENZIMA PROTEOLÍTICA (para uso In Vitro)

REFERENCIA	producto	PRESENTACIÓN
174D1112	PAPAÍNA LIOFILIZADA	10 X 2 ML

CONSERVACION

La fecha de caducidad está indicada sobre la etiqueta cuando es conservado entre +2°C y + 4°C. El reactivo deberá de ser ensayado durante las primeras 24H a su reconstitución ó almacenarse a -20°C.

PRINCIPIO

La Papaína es un enzima proteolítico empleado para el estudio de anticuerpos irregulares. La papaína "decapa" la superficie del hematíe liberando fragmentos poli-peptídicos de las Glicoproteínas de la membrana que lo forman. Dichos fragmentos contienen ácido siálico que originan una disminución del potencial ZETA y favorecen la fijación de anticuerpos no espontáneamente aglutinantes.

TECNICAS DE USO

1. TÉCNICA RÁPIDA:

- Lavar los hematíes tres veces en solución salina (CINa 0.9%).
- Añadir en un tubo de hemólisis:

Un volumen de papaína (ref:174D1112) reconstituida con el volumen de Agua Destilada indicada en la etiqueta.

Un volumen de suspensión al 5% de hematíes en sol. Salina (CINa 0.9%).

- Incubar durante 10 minutos a 37°C en un baño termostático.
- Añadir un volumen de suero a testar y agitar suavemente.
- Incubar durante 5 minutos a 37°C.
- Centrifugar 1 minuto a 100 g (1000rpm)

La reacción es leída macroscópicamente sobre un soporte blanco después de despegar el botón globular:

Si los hematíes son separados en una o más fragmentos, la reacción es Positiva.

Si la suspensión se hace homogénea, la reacción será Negativa.

2. TÉCNICA EN DOS PASOS:

A) Tratamiento de los hematíes:

- Lavar los hematíes tres veces en solución Salina (CINa 0.9%).

Dispensar sobre un tubo: 1 volumen de papaína (ref:174D1112) reconstituida con el volumen de Agua Destilada indicada en la etiqueta y 1 volumen de sangre globular

- Agitar suavemente
- Incubar 7 minutos a 37°C
- Lavar la sangre globular tratada 3 veces en solución salina (CINa 0.9%).

B) Reacción de Aglutinación:

- Poner sobre un tubo de hemólisis:
- 1 (50 µl) volumen de hematíes papainizados en suspensión al 5% en solución salina (CINa 0.9%).
- 2 volúmenes (100 µl) de suero a testar.
- Agitar suavemente e incubar durante 30 minutos a 37°C en un baño termostático.

La reacción es leída macroscópicamente sobre un soporte blanco después de despegar el botón globular:

Si los hematíes son separados en una o más fragmentos, la reacción es Positiva.

Si la suspensión se hace homogénea, la reacción será Negativa.

LIMITACIONES:

Algunos antígenos de grupo sanguíneo son destruidos o inactivados después del uso del tratamiento enzimático: M, N, S, s, Fy. Esta inactivación resulta de la presencia de los determinantes antigénicos sobre los fragmentos polipeptídicos liberados durante la proteólisis

Es recomendable la realización de controles positivos y negativos para la validación de los resultados.