

Anti-A, Anti-B y Anti-AB son anticuerpos monoclonales de tipo IgM específicos contra los antígenos A y B de los glóbulos rojos.

Los reactivos de la prueba monoclonal se utilizan para determinar los antígenos del sistema de grupo sanguíneo ABO por aglutinación de glóbulos rojos humanos.

INFORMACIÓN

REF	Tamaño de pack
A 10/B 10/ AB 10	1 x 10 ML
A 100/B 100/ AB 100	10 x 10 ML
A 1000/B 1000/ AB 1000	10 x 1000 ML

SIGNIFICANCIA CLÍNICA

Entre 1900 y 1902, Landsteiner y asociados descubrieron el sistema ABO de antígenos de glóbulos rojos. La importancia de este descubrimiento es el reconocimiento de que los anticuerpos están presentes cuando faltan los antígenos correspondientes. El sistema ABO es el único sistema de grupos sanguíneos en el que los anticuerpos recíprocos están presentes de manera consistente y predecible en la mayoría de las personas. Debido a esta reciprocidad, una determinación del tipo de sangre ABO se considera válida si la tipificación del suero se corresponde con la agrupación de antígenos de glóbulos rojos.

Los reactivos de prueba se producen a partir del sobrenadante de células de hibridoma obtenidas inmunizando ratones Balb/C con glóbulos rojos de los grupos sanguíneos A y B y fusionando esplenocitos de ratones con células de mieloma (SP2/O). Anticuerpo monoclonal de ratón producido contra los antígenos del grupo sanguíneo humano A y B. Los reactivos de determinación de grupos sanguíneos Accucare Anti-A, Anti-B y Anti-AB se utilizan para comprobar la presencia o ausencia de los antígenos correspondientes. Los estudios previos a la transfusión de rutina siempre incluyen pruebas para los antígenos ABO y la agrupación inversa.

MÉTODO

Técnica de hemaglutinación.

PRINCIPIO

El sistema de grupo sanguíneo humano ABO consiste en el hecho de que las personas que toman los antígenos A y/o B de los glóbulos rojos tienen regularmente anticuerpos en el suero contra los antígenos faltantes. La siguiente tabla muestra los principales antígenos y anticuerpos del sistema ABO.

Grupo sanguíneo	Antígenos presentes	Anticuerpos presentes en suero
O	-	ANTI A y ANTI B
A	A	ANTI B
B	B	ANTI A
AB	A Y B	NINGUNO

Los anticuerpos monoclonales específicos de los reactivos aglutinan los glóbulos rojos que poseen el antígeno correspondiente. El fenotipado (agrupamiento) de la muestra de sangre se determina por la presencia de hemaglutinación con Anti A o Anti B.

REACTIVO

El Anti-A, Anti-B y Anti-A,B contienen como componentes reactivos anticuerpos monoclonales de la clase de inmunoglobulina IgM. Los anticuerpos se diluyen en una solución de proteína tamponada que contiene albúmina bovina, tetraacetato de etilendiamina (EDTA) y como colorante Patent Blue (Anti-A) o Tartrazina (Anti-B).

PREPARACION DE REACTIVO

El reactivo suministrado está listo para usar. Proteger de la luz brillante.

ALMACENAMIENTO DE REACTIVO Y ESTABILIDAD

Este producto se conservará bien dentro del límite de utilidad hasta la fecha de caducidad, si se almacena a una temperatura entre 2 y 8 °C. Precaución: No congelar.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Para uso diagnóstico in vitro.
- No utilice componentes más allá de la fecha de caducidad.
- No mezcle materiales de diferentes números de lote del kit.
- Tome las precauciones normales requeridas para el manejo de todos los reactivos de laboratorio.
- El reactivo contiene conservante. No lo trague. Evite el contacto con la piel y las mucosas.
- Para obtener información detallada, consulte la Hoja de datos de seguridad del material.
- Considere la muestra de sangre como potencialmente infecciosa, manéjela y deséchela según las pautas nacionales aplicables.

GESTIÓN DE RESIDUOS

Consulte los requisitos legales locales.

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS

- Tubos de ensayo (8X50mm)
- Diapositivas
- pipetas
- palo aplicador
- Centrífugo
- (0,9% NaCl) solución salina
- Equipos generales de laboratorio

OBTENCIÓN Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS

- La sangre debe extraerse mediante una técnica aséptica con un anticoagulante. La muestra debe analizarse lo antes posible después de la recolección.
- Si se produce un retraso en la prueba, la muestra debe almacenarse entre 2 °C y 8 °C. La contaminación bacteriana puede causar resultados de prueba falsos.
- La sangre extraída en heparina o citrato de sodio o EDTA debe usarse dentro de los 2 o 14 días respectivamente.

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO - FENOTIPO

Prueba de diapositiva macroscópica

1. Etiquete dos portaobjetos de vidrio con el nombre o número del paciente y haga dos círculos en cada portaobjetos. Etiquete los círculos como A, B, AB y S.
2. Agregue una gota de anticuerpo Anti-A en el círculo A, anticuerpo Anti-B en el círculo B, anticuerpo Anti-AB en el círculo AB y una gota de solución salina en el cuarto círculo.
3. Agregue una gota de la suspensión salina de sangre total o glóbulos rojos del paciente a cada círculo.
4. Mezcle los glóbulos rojos y el anticuerpo inmediatamente con un aplicador y extiéndalo sobre un área de aproximadamente una pulgada cuadrada dentro del círculo.
5. Inclíne suavemente los portaobjetos hacia adelante y hacia atrás a temperatura ambiente durante un máximo de dos minutos.
6. Lea los portaobjetos para hemaglutinación.

Prueba de tubo microscópico (para mayor sensibilidad)

1. Utilice tubos de ensayo de vidrio pequeños de 8x50 mm. Para cada muestra, tome 4 tubos y etiquételos con el nombre o número del paciente. Marque los tubos como A, B, AB y solución salina.
2. Agregue una gota de anticuerpo Anti-A, Anti-B, Anti-AB y solución salina a los tubos respectivos.
3. Agregue una gota de solución salina de glóbulos rojos al 2-3 % a cada tubo.
4. Mezcle los glóbulos rojos y el anticuerpo inmediatamente con un aplicador y extiéndalo sobre un área de aproximadamente una pulgada cuadrada dentro del círculo.
5. Inclíne suavemente los portaobjetos hacia adelante y hacia atrás a temperatura ambiente durante un máximo de dos minutos.
6. Lea los portaobjetos para hemaglutinación.

Prueba de tubo microscópico (para mayor sensibilidad)

1. Utilice tubos de ensayo de vidrio pequeños de 8x50 mm. Para cada muestra, tome 4 tubos y etiquételos con el nombre o número del paciente. Marque los tubos como A, B, AB y solución salina.
2. Agregue una gota de anticuerpo Anti-A, Anti-B, Anti-AB y solución salina a los tubos respectivos.
3. Agregue una gota de solución salina de glóbulos rojos al 2-3 % a cada tubo. (Para preparar una suspensión de solución salina de glóbulos rojos al 2-3 %, agregue aproximadamente 5 volúmenes de solución salina isotónica a la sangre completa y centrifugue durante 2 minutos. Retire el sobrenadante y lave los glóbulos rojos sedimentados tres veces más con solución salina normal como se indicó anteriormente. Después del lavado final, tome 20-30 µl de glóbulos rojos sedimentados, maquille con 1 ml de solución salina y mezcle bien antes de usar).
4. Agite bien cada tubo y centrifugue durante 1 minuto a 1000 rpm (125 g) o 3400 RPM (1000 g) durante 20 segundos o incube a temperatura ambiente durante 1 hora.
5. Retire con cuidado las células del sedimento y lea la hemaglutinación, ya sea macroscópica o microscópicamente.

Estabilidad de la reacción

Después de la centrifugación, todas las pruebas de tubo deben leerse inmediatamente y los resultados deben interpretarse sin demora. Los retrasos en el tiempo pueden causar una disociación de los complejos antígeno-anticuerpo que da como resultado reacciones negativas falsas o, más a menudo, positivas débiles.

INTERPRETACIÓN

La aglutinación de glóbulos rojos en dos minutos indica los antígenos correspondientes en los glóbulos rojos del paciente. La ausencia de aglutinación indica la ausencia de dichos antígenos en los glóbulos rojos. Los resultados de la aglutinación se interpretan como sigue para el fenotipado.

Muestra de globulos rojos reactivos a:				
ANTI-A	ANTI-B	ANTI-AB	SALINA	RESULTADOS
+	-	+	-	"A" Grupo
-	+	+	-	"B" Grupo
+	+	+	-	"AB" Grupo
-	-	-	-	"O" Grupo
-	-	+	-	Variantes débiles del Grupo "A" o "B"
+	+	+	+	(*)

(*) Sugestivo de anticuerpos en la sangre dando una reacción no específica. La prueba completa debe repetirse usando una suspensión salina al 10% de glóbulos rojos.

Aunque los antisueros Anti-A y Anti-B son suficientes para el fenotipado ABO de la sangre 'O', es recomendable utilizar sueros Anti-AB para descartar cualquier duda que surja debido a variantes más débiles de los subgrupos de A y B.

CONTROL DE CALIDAD

Ejecute controles de prueba positivos y negativos para cada lote de sueros de grupos sanguíneos cada vez antes de continuar con las muestras de prueba reales.

CARACTERÍSTICAS DE PRESENTACIÓN

1. Estos reactivos cumplen con los requisitos de potencia de la FDA para los reactivos de determinación de grupos sanguíneos que se utilizarán en la técnica del tubo de ensayo.
2. Cada lote de cada producto se prueba para asegurar una reactividad y especificidad confiables en el uso de acuerdo con los requisitos de la FDA.
3. Anti-B no aglutina los glóbulos rojos "B adquiridos" analizados.
4. En determinados casos (receptores de transfusiones, determinados fenotipos A o B débiles (A3, B3...), determinadas modificaciones hemopatológicas, mosaicos o quimeras, etc.), se puede observar una imagen de doble población.
5. El Anticuerpo Anti-A y, accesoriamente, el Anticuerpo Anti-A,B producen una reacción cruzada con el Antígeno Tn que da lugar a una imagen de doble población (fenómeno excepcional).

DESCARGO DE RESPONSABILIDAD

- Cada instalación debe verificar el tiempo de centrifugado óptimo para la centrifuga específica en uso.
- Las técnicas manuales deben realizarse de acuerdo con las instrucciones del fabricante.
- Cada desviación de estas instrucciones es responsabilidad exclusiva del usuario.
- Las pruebas usadas deben desecharse como material peligroso. Maneje los desechos de acuerdo con las regulaciones locales, estatales y nacionales.

LIMITACIÓN DEL PROCEDIMIENTO

- La gota de sangre en el portaobjetos no debe dejarse secar, el secado parcial de la sangre podría malinterpretarse como aglutinación.
- La centrifugación debe ser perfecta. La centrifugación excesiva o la centrifugación insuficiente pueden dar lugar a una interpretación de falso positivo o falso negativo
- El desalojo de los glóbulos rojos sedimentados en la prueba del tubo debe realizarse con el mayor cuidado posible, el desalojo brusco puede alterar los aglutinados pequeños o débiles y, por lo tanto, puede dar lugar a una interpretación falsa negativa.
- Todo el procedimiento debe llevarse a cabo a temperatura ambiente. Los anticuerpos calientes o fríos en la sangre analizada pueden causar aglutinación y dar lugar a una interpretación incorrecta.
- No se deben utilizar muestras de sangre hemolizada.
- Las concentraciones inadecuadas de anticuerpos antigénicos pueden causar una aglutinación falsa o retardada.
- En los platos, las muestras de sangre pueden ocasionalmente reaccionar por rouleaux.
- formación, que puede confundirse con una aglutinación débil y puede leerse incorrectamente como un resultado positivo. Este fenómeno tiene causas no inmunológicas. La formación de Rouleaux también ocurre en la sangre con heparina, la sangre de pacientes tratados con expansores de plasma (p. ej., dextrano o hidroxietilalmidón), así como la sangre de pacientes con plasmocitoma (alto contenido de proteínas, cambios en la composición de proteínas), enfermedad ontológica (recuento sanguíneo anormal) o disfunción de la coagulación. Para probar estas muestras, use la prueba de tubo, que generalmente evita este fenómeno.

Anti-D IgG/IgM está diseñado solo para diagnóstico in vitro y uso profesional. Está diseñado para la detección de antígeno Rhesus D y glóbulos rojos humanos Du débiles. INFORMACIÓN

REF	Tamaño de pack
D 10	1 x 10 ML
D 100	10 x 10 ML
D 1000	10 x 1000 ML

SIGNIFICANCIA CLÍNICA

Después del sistema ABO, descubierto por Landsteiner en 1900, el antígeno del grupo sanguíneo más importante, descrito por primera vez en 1939, es el antígeno D del sistema del grupo sanguíneo Rh. La determinación de RhD se define por la presencia o ausencia del antígeno D en los glóbulos rojos. Junto con el sistema de grupo sanguíneo ABO, D es el antígeno de grupo sanguíneo más importante. A diferencia de los anticuerpos del sistema ABO, los del sistema Rh no se encuentran de forma natural en el suero, sino que suelen ser el resultado de la exposición al antígeno durante el embarazo o mediante una transfusión. La presencia o ausencia del antígeno D se determina analizando los glóbulos rojos con Anti-D. La aglutinación indica que las células de prueba son D positivas. Ninguna aglutinación indica que las células de prueba son D negativas. Aproximadamente el 85% de la población blanca y el 94% de la población negra son positivos para el antígeno D. El término "D débil" se utiliza para describir formas del antígeno D que pueden no aglutinarse directamente con los reactivos Anti-D. Los glóbulos rojos de los donantes deben someterse a más pruebas mediante la realización de una prueba D débil de antiglobulina indirecta antes de clasificarlos como D negativos.

Un antígeno D completo posee 9 epitopos diferentes y los antígenos débiles carecen de algunos epitopos, que dependen del estado de expresión, como Rh positivo típico completamente expresado (D positivo), antígeno D débilmente expresado (D débil), antígeno D modificado cualitativamente (D parcial).) que también expresó débilmente (por ejemplo, D categoría VI). MÉTODO

Técnica de hemaglutinación.

PRINCIPIO

El procedimiento utilizado dentro del reactivo se basa en el principio de aglutinación. Los glóbulos rojos con antígenos Rhesus D se aglutinan cuando se mezclan con anticuerpos anti Rhesus (D) (IgG/IgM). El fenotipado (agrupamiento) de ellos se realiza al reaccionar con una muestra de sangre. La presencia de hemaglutinación determina la positividad de Anti-D IgG/IgM con antígeno que presente en la sangre se clasifica como Rh+ve.

REACTIVO

Anti-D IgG/IgM es una mezcla de anticuerpos monoclonales IgG e IgM Anti-D. Anti-D IgG/IgM se obtiene del sobrenadante de cultivo de la línea celular de heterohibridoma mediante el cultivo in vitro de líneas celulares linfoblastoides para linfocitos B humanos secretores de anticuerpos transformados por EBV.

PREPARACION DE REACTIVO

El reactivo suministrado está listo para usar. Proteger de la luz brillante.

ALMACENAMIENTO DE REACTIVO Y ESTABILIDAD

Este producto se conservará bien dentro del límite de utilidad hasta la fecha de caducidad, si se almacena a una temperatura entre 2 y 8 °C. Precaución: No congelar.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Para uso diagnóstico in vitro.
- No utilice componentes más allá de la fecha de caducidad.

- No mezcle materiales de diferentes números de lote del kit.
- Tome las precauciones normales requeridas para el manejo de todos los reactivos de laboratorio.
- El reactivo contiene conservante. No lo tragues. Evite el contacto con la piel y las mucosas.
- Para obtener información detallada, consulte la Hoja de datos de seguridad del material.
- Considere la muestra de sangre como potencialmente infecciosa, manéjela y deséchela según las pautas nacionales aplicables.

GESTIÓN DE RESIDUOS

Consulte los requisitos legales locales.

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS

- Tubos de ensayo (8X50mm)
- Diapositivas
- pipetas
- palo aplicador
- Centrifugo
- (0,9% NaCl) solución salina
- Equipos generales de laboratorio

OBTENCIÓN Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS

- La sangre debe extraerse mediante una técnica aséptica con un anticoagulante. La muestra debe analizarse lo antes posible después de la recolección.
- Si se produce un retraso en la prueba, la muestra debe almacenarse entre 2 °C y 8 °C. La contaminación bacteriana puede causar resultados de prueba falsos.
- La sangre extraída en heparina o citrato de sodio o EDTA debe usarse dentro de los 2 o 14 días respectivamente.

Preparación de suspensión de solución salina de glóbulos rojos al 10 %

1. Agregue aproximadamente 5 volúmenes de solución salina isotónica a la sangre completa (lavado si hay glóbulos rojos)
2. Centrifugar durante 2 minutos.
3. Retire el sobrenadante y lave el sedimento RBC/s tres veces más con solución salina normal.
4. Después del lavado final, tome 100 glóbulos rojos sedimentados, diluya a 1 ml con solución salina y mezcle bien.

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO - FENOTIPO

Prueba de diapositiva macroscópica

1. Traer el reactivo y las muestras a temperatura ambiente.
2. Agregue una gota de anticuerpo Anti – D IGG+IGM en una lámina portaobjeto.
3. Etiquetar el área respectiva como "D" y también poner el nombre o código del paciente.
4. Agregue una gota de la suspensión salina de sangre total o glóbulos rojos del paciente a cada círculo.
5. Mezcle los glóbulos rojos y el anticuerpo inmediatamente con un aplicador y extiéndalo sobre un área de aproximadamente una pulgada cuadrada dentro del círculo.
6. Incline suavemente los portaobjetos hacia adelante y hacia atrás a temperatura ambiente durante un máximo de dos minutos.
7. Lea los portaobjetos para hemaglutinación.

Prueba de tubo microscópico (para mayor sensibilidad)

1. Utilice tubos de ensayo de vidrio pequeños de 8x50 mm. Para cada muestra, tome 4 tubos y etiquételos con el nombre o número del paciente.
2. Agregue una gota de anticuerpo Anti-D IGG+IGM y solución salina a los tubos respectivos.
3. Agregue una gota de solución salina de glóbulos rojos al 2-3 % a cada tubo.
4. Mezcle los glóbulos rojos y el anticuerpo y centrifugue por 1 minuto a 1000 rpm (125g) o 3400 rpm (1000g) por 20 segundos o incube a temperatura ambiente por una hora.
5. Gentilmente retire las células de sedimentación y lea la hemaglutinación.

Estabilidad de la reacción

Después de la centrifugación, todas las pruebas de tubo deben leerse inmediatamente y los resultados deben interpretarse sin demora. Los retrasos en el tiempo pueden causar una disociación de los complejos antígeno-anticuerpo que da como resultado reacciones negativas falsas o, más a menudo, positivas débiles.

INTERPRETACIÓN

La aglutinación de glóbulos rojos en dos minutos indica los antígenos correspondientes en los glóbulos rojos del paciente. La ausencia de aglutinación indica la ausencia de dichos antígenos en los glóbulos rojos. Los resultados de la aglutinación se interpretan como sigue para el fenotipado.

Rh D + Ve	Muestra de glóbulos rojos positivos para hemaglutinación para Anti-D IGG/IGM
Rh D - Ve	Sin aglutinación de glóbulos rojos positivos para Anti-D IGG/IGM

Nota: Si surge alguna duda en la interpretación, se debe repetir la prueba completa después de lavar a fondo los glóbulos rojos en solución salina y suspenderlos antes de su uso.

Anti-D IgG/IgM aglutina las células Rh D+ve y la mayoría de los subtipos más débiles de antígenos Du. Sin embargo, algunos de los antígenos Du pueden ser negativos para la reacción de hemaglutinación directa. Para detectar una variante tan débil del antígeno Du, use un suero anti-D policlonal o una mezcla de sueros policlonales y monoclonales con IgG e IgM mediante el procedimiento de prueba de Coomb.

CONTROL DE CALIDAD

Ejecute controles de prueba positivos y negativos para cada lote de sueros de grupos sanguíneos cada vez antes de continuar con las muestras de prueba reales.

CARACTERÍSTICAS DE PRESENTACIÓN

1. Estos reactivos cumplen con los requisitos de potencia de la FDA para los reactivos de determinación de grupos sanguíneos que se utilizarán en la técnica del tubo de ensayo.
2. Cada lote de cada producto se prueba para asegurar una reactividad y especificidad confiables en el uso de acuerdo con los requisitos de la FDA.
3. La intensidad de las reacciones obtenidas con Anti-D IgM puede depender del número de sitios de antígenos presentes en los glóbulos rojos.
4. Anti-D IgM+IgG permite la detección de glóbulos rojos débiles D (RH1) en el método de hemaglutinación indirecta con antiglobulina.
5. Las pruebas realizadas en fenotipos particulares, si bien son satisfactorias, no pueden garantizar el reconocimiento de todos los sujetos débiles o variantes, debido a la variabilidad de los motivos de antígenos.

6. Los Anti-D IgM+IgG tienen la particularidad de reconocer ciertos motivos antigénicos raros de tipo RH33 (DHAr) y, por tanto, pueden producir reacciones discordantes con reactivos policlonales que los reconocen poco o nada.

7. El rendimiento de los reactivos se confirmó frente a los reactivos autorizados por la FDA en un estudio comparativo en el que los reactivos se probaron en paralelo en diferentes centros clínicos. DESCARGO DE RESPONSABILIDAD

- Cada instalación debe verificar el tiempo de centrifugado óptimo para la centrifuga específica en uso.
- Las técnicas manuales deben realizarse de acuerdo con las instrucciones del fabricante.
- Cada desviación de estas instrucciones es responsabilidad exclusiva del usuario.
- Las pruebas usadas deben desecharse como material peligroso. Maneje los desechos de acuerdo con las regulaciones locales, estatales y nacionales.

LIMITACIÓN DEL PROCEDIMIENTO

- La gota de sangre en el portaobjetos no debe dejarse secar, el secado parcial de la sangre podría malinterpretarse como aglutinación.
- La centrifugación debe ser perfecta. La centrifugación excesiva o la centrifugación insuficiente pueden dar lugar a una interpretación de falso positivo o falso negativo.
- Retiro de los glóbulos rojos sedimentados en la prueba del tubo debe realizarse con el mayor cuidado posible, el desalojo brusco puede alterar los aglutinados pequeños o débiles y, por lo tanto, puede dar lugar a una interpretación falsa negativa.
- Todo el procedimiento debe llevarse a cabo a temperatura ambiente. Los anticuerpos calientes o fríos en la sangre analizada pueden causar aglutinación y dar lugar a una interpretación incorrecta.
- No se deben utilizar muestras de sangre hemolizada.
- Las concentraciones inadecuadas de anticuerpos antigénicos pueden causar una aglutinación falsa o retardada.
- El test de Coombs debe ser llevado a cabo cada vez que se considere necesario.
- Las pruebas de donación de sangre deben ser realizadas usando los reactivos de Anti-D IGG/IGM. Es necesario que cada característica D de Rh expresada débilmente o sólo parcialmente se detecte de forma fiable.