

Anti A, Anti B, Anti A+B

RUO

PRESENTACION			
REF	3420010	Anti A	10 mL
	3430010	Anti B	10 mL
	3450010	Anti A+B	10 mL
Sólo para uso diagnóstico <i>in vitro</i>			

ABO

Anti A, anti B, anti A+B monoclonal

Determinación cualitativa del antígeno A y/o B en sangre humana.

PRUEBAS EN PORTA Y TUBO

FUNDAMENTO

La determinación de grupos sanguíneos del sistema ABO se efectúa enfrentando los hematíes problema con reactivos de especificidad conocida anti A, anti B, anti A+B. La aglutinación o no de los hematíes ensayados frente a cada uno de los reactivos es indicativa de la presencia o ausencia de los correspondientes antígenos. Los reactivos del grupaje sanguíneo preparados con anticuerpos monoclonales tienen la ventaja adicional de una identidad constante y una reproducibilidad absoluta de su especificidad.

Prueba globular			Prueba sérica				ABO Fenotipo	% Caucasianos
A	B	A,B	A ₁	A ₂	B	O		
+	0	+	0	0	+	0	A 42	
0	+	+	+	+	0	0	B 10	
0	0	0	+	+	+	0	O 44	
+	+	+	0	0	0	0	AB 4	

COMPOSICION DE LOS REACTIVOS

Anticuerpos monoclonales murinos IgM

Anti A

Línea celular 9113D10. Tampón fosfatos. Azida sódica <0,1%. Color azul. Colorante: Patent Blue.

Anti B

Línea celular 9621A8. Tampón fosfatos. Azida sódica <0,1%. Color amarillo. Colorante: Tartrazine.

Anti A+B

Línea celular 152D12+9113D10. Tampón fosfatos. Azida sódica 0,1% g/L. Incoloro.

Precauciones: Se aconseja manipular los reactivos y las muestras con las precauciones debidas.

Usar guantes y ropa protectora.

Aviso: Los reactivos contienen azida sódica. Evitar el contacto con la piel y mucosas.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

1. Todos estos reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C y se evita la contaminación durante su uso. No usar los reactivos una vez caducados.
2. No congelar o exponer el reactivo a altas temperaturas. La conservación del producto a temperatura distinta de la recomendada acelera la pérdida de reactividad de producto.
3. Estos reactivos deben ser claros y transparentes. La presencia de turbidez puede indicar contaminación microbiana.
4. Descartar el contenido del vial, en caso de turbidez, rotura o pérdida de contenido.

PREPARACION DE LOS REACTIVOS

Los reactivos están listos para su uso.

MUESTRAS

Si la prueba se efectúa de inmediato, puede utilizarse sangre total anticoagulada o sangre coagulada en su propio suero.

Muestras recogidas en EDTA o Heparina deberán ensayarse antes de 48 horas.

Muestras recogidas en ACD, CPD, CPDA-1 mantienen su reactividad durante 35 días.

Guardar las muestras a 2-8°C.

EQUIPO ADICIONAL

- Tubos de vidrio (10x75 mm o 12x75 mm).
- Pipetas Pasteur.
- Centrifuga Sero-fuge o similar.
- Portas de vidrio.
- Palillos desechables.

REACTIVOS ADICIONALES

- Solución Salina Tamponada (PBS): 8,5-9,0 g/L NaCl (0,145 mol/L–0,154 mol/L) pH 7,0 ± 0,2 a 22 ± 1°C.
- Hematíes control: Positivos (preferentemente A₂B) y negativos (grupo O).

TECNICA

I. Prueba en placa

1. Depositar 1 gota (aprox. 40 µL) de hematíes problema resuspendidos, con un hematocrito aproximado del 35-40%, sobre una placa.
2. Añadir 1 gota (aprox. 40 µL) del reactivo cerca de la muestra de hematíes.
3. Mezclar bien la sangre con el reactivo, con un palillo desechable, formando un círculo de unos 2 cm de diámetro.
4. Mover la placa lentamente con movimientos basculantes durante 2 minutos.

5. Lectura

Examinar macroscópicamente la presencia o ausencia de aglutinación:

Reacción negativa:

No se observa aglutinación a los 2 minutos.

Reacción positiva:

Los hematíes aglutinan en segundos.

En casos dudosos se recomienda efectuar una lectura final a los 2 minutos.

II. Prueba en tubo

1. Preparar una suspensión al 2-3% de hematíes problema en PBS, lavados 2 veces con PBS.
2. Depositar 1 gota del reactivo correspondiente (aprox. 40 µL) en un tubo apropiado.
3. Añadir 1 gota (aprox. 40 µL) de suspensión al 2-3%.



4. Mezclar bien e incubar a 18-25°C aproximadamente 1 min. y centrifugar a 1000 f.c.r. durante 20 segundos o por una fuerza y tiempo equivalentes.

5. Lectura

Golpear suavemente el tubo para desprender el sedimento y examinar la presencia o ausencia de aglutinación.

Reacción negativa:

La resuspensión de los hematíes es homogénea.

Reacción positiva:

Los hematíes positivos permanecen aglutinados una vez resuspendidos.

Cualquier tubo que presente un resultado negativo o dudoso deberá incubarse 15 min. a 18-25°C y repetir los pasos 4 y 5.

Interpretación

1. *Reacción positiva:* La aglutinación de los hematíes problema es indicativa de un resultado positivo, teniendo en cuenta las limitaciones del procedimiento, y confirma la presencia del correspondiente antígeno ABO en los hematíes.
2. *Reacción negativa:* La ausencia de aglutinación de los hematíes problema es indicativa de un resultado negativo, teniendo en cuenta las limitaciones del procedimiento, y confirma la ausencia del correspondiente antígeno ABO en los hematíes.

Discrepancias:

- Si se encuentran discrepancias en los resultados obtenidos en la prueba globular y la sérica, estas deberán investigarse.
- Una aglutinación con el control negativo no deberá interpretarse como un resultado positivo, ya que la aglutinación podría deberse a los potenciadores macromoleculares sobre los hematíes sensibilizados.

CONTROL DE CALIDAD Y NOTAS

- Se recomienda comprobar la funcionalidad de los reactivos, en cada lote, incluyendo controles positivos (preferentemente hematíes AzB) y negativos (hematíes O).
Si se observan discrepancias con los resultados esperados el resultado debe considerarse invalidado.
- Cuando se ensayen hematíes de paciente es importante incluir un control negativo, ya que los potenciadores macromoleculares del reactivo pueden causar resultados falsamente positivos con hematíes sensibilizados con IgG.
- En personas mayores de 6 meses, es necesario completar la prueba de determinación del grupo sanguíneo ABO con la prueba sérica frente a hematíes A₁ y B, para identificar paralelamente los anticuerpos correspondientes al antígeno ausente, y confirmar el grupo sanguíneo.
- El uso e interpretación de los resultados debe llevarse a cabo por personal formado y cualificado, de acuerdo con la normativa de cada país.
- La validación del reactivo con otras técnicas deberá determinarlas el usuario.

CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES

- Los reactivos han sido ensayados, según lo especificado en el apartado de TÉCNICA.

- El título de los reactivos se ha determinado frente a: Minimum potency reference standards de National Institute of Biological Standards and Controls (NIBSC):
 - Anti-A reference standard 88/722 y / o
 - Anti-B reference standard 88/724
- Linear Chemicals anti B no reacciona con hematíes "Acquired-B".
- Los reactivos monoclonales de Linear Chemicals no detectan criptogenes como el T, Tn o Cad.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Los antígenos ABO en recién nacidos no están totalmente desarrollados y pueden dar resultados débiles tanto en sangre capilar como en sangre de cordón.
- Muestras de sangre de subgrupos de A ó B pueden dar falsos resultados negativos o reacciones débiles.
- La sangre almacenada puede dar resultados más débiles que la sangre fresca.
- Falsos resultados pueden ser debidos a:
 - Contaminación del material usado.
 - Tiempo o temperatura de incubación inadecuados.
 - Inadecuada o excesiva centrifugación.
 - Inadecuada conservación u omisión de los reactivos.
 - No seguir la técnica recomendada.
 - Muestras de cordón umbilical contaminadas con gelatina de Wharton

REFERENCIAS

1. Kholer, G. y Milstein, C. Continuous culture of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature. 256 : 495-497 (1975).
2. Messeter, L. et al. Mouse monoclonal antibodies with Anti-A, Anti-B and Anti-A,B specificities, some superior to human polyclonal ABO reagents. Vox Sang. 46: 185-194 (1984).
3. Race RR, Sanger R. Blood Groups in Man, 6th Edition. Blackwell Scientific, Oxford. Chapter 2. (1975).
4. Mollison PL. Blood Transfusion in Clinical Medicine, 8th Edition, Blackwell Scientific, Oxford. Chapter 7. (1987).
5. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami. Chapter 6. (1985)
6. BSCH Blood Transfusion Task Force. Guidelines for microplate techniques in liquid-phase blood grouping and antibody screening, Clinical Laboratory Haematology. 12: 437-460 (1990).
7. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. H.M.S.O. Fourth Edition, Section 3 (2000).
8. 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. 5: 145-150 (1995).

G3420-2/0407
RI.cas

