



HEMOCLASIFICADOR
• Reaclon •
HEMOCLASIFICADOR

Anti-A, Anti-B o Anti-AB

monoclonal

Reactivos para la determinación de grupos sanguíneos ABO

SIGNIFICACION CLINICA

A comienzo del siglo pasado, Landsteiner descubrió que los individuos podían ser agrupados en A, B, AB u O de acuerdo a la presencia (grupos A, B, o AB) o ausencia (grupo O) de antígenos fuertemente inmunogénicos en la superficie de los glóbulos rojos. También demostró la existencia de anticuerpos (aglutininas) dirigidos contra los antígenos A y B y que el suero de un individuo no contiene anticuerpos para el antígeno presente en sus propios glóbulos rojos pero sí contra los que no posee. Actualmente se han identificado subgrupos de los grupos A y B.

Todas estas observaciones revelaron la importancia de la compatibilidad ABO en la práctica transfusional.

FUNDAMENTOS DEL METODO

La determinación de grupos sanguíneos del sistema ABO se efectúa enfrentando los glóbulos rojos del paciente con anticuerpos monoclonales Anti-A, Anti-B o Anti-AB. La aglutinación o no de los hematíes ensayados frente a cada uno de los reactivos indica la presencia o ausencia de los correspondientes antígenos.

REACTIVOS PROVISTOS

Anti-A, Anti-B o Anti-AB monoclonal: reactivos preparados a partir de anticuerpos monoclonales de clase IgM secretados por líneas celulares de hibridoma de ratón en una solución tamponada contenido < 1 g/l de azida sódica como conservante. Los clones involucrados y la coloración de cada producto se detallan en la siguiente tabla:

Nombre del Producto	Línea(s) Celular(es)	Color
Anti-A	BIRMA-1	Azul
Anti-B	LB-2	Amarillo
Anti-AB	BIRMA-1/ES-4/ES-15	Incoloro

Estos antisueros se caracterizan por su alta potencia, avidez y especificidad.

Al no ser de origen humano, no existen riesgos de infección por HIV, HBV o HCV.

REACTIVOS NO PROVISTOS

De acuerdo a la técnica empleada puede requerirse adicionalmente:

- Solución fisiológica
- Solución fisiológica tamponada con buffer fosfatos (PBS) pH 7,0 ± 0,2
- Solución fisiológica de baja fuerza iónica (LISS)

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Los reactivos se proveen listos para usar. No deben diluirse.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Los Reactivos Provistos son estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No congelar.

Periodos prolongados de almacenamiento a temperaturas fuera de este rango pueden acelerar la pérdida de la actividad de los reactivos.

Evitar los cambios térmicos repetidos y limitar a lo estrictamente necesario la exposición de los reactivos a temperatura ambiente.

En estas condiciones de uso y conservación, los reactivos, después de su apertura, son estables hasta la fecha de expiración indicada en la caja.

INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

Desechar los reactivos cuando se observe contaminación de los mismos. Si bien la azida de sodio se adiciona como bacteriostático, se recomienda inspeccionar los reactivos visualmente antes de usarlo. No deben utilizarse si presentan turbidez.

Los reactivos no deben utilizarse si presentan precipitados o partículas.

MUESTRA

Glóbulos rojos o sangre entera

a) Recolección: la sangre debe ser obtenida asépticamente, con o sin anticoagulante.

Puede analizarse sangre obtenida por punción digital para la técnica en placa. Para evitar la coagulación de la sangre al utilizar esta técnica, se la debe mezclar rápidamente con el reactivo a ensayar.

Para los ensayos con sangre de cordón, los glóbulos rojos deberán lavarse previamente con solución fisiológica.

b) Aditivos: pueden emplearse como anticoagulantes: EDTA, heparina, ACD (ácido cítrico, citrato, dextrosa), CPD (citrato, fosfato, dextrosa) o CPDA-1 (citrato, fosfato, dextrosa, adenina). Puede utilizarse Anticoagulante W de Wiener lab.

c) Sustancias interferentes conocidas: las muestras que presentan hemólisis o contaminación microbiana, no deben ser analizadas.

d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:

una vez obtenidas, las muestras deben ser analizadas lo antes posible. Si el análisis no se realiza inmediatamente, conservar las mismas entre 2-10°C. Si se utilizó heparina o EDTA, la tipificación debe llevarse a cabo dentro de las 48 horas de extraídas. Las muestras recogidas con ACD, CPD o CPDA-1 pueden ser ensayadas hasta los 35 días a partir de su extracción. Si se emplean coágulos, deberá efectuarse la tipificación dentro de los 7 días de obtenida la muestra. La sangre de donantes puede ser analizada hasta su fecha de vencimiento.

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Centrifuga
- Tubos de hemólisis
- Placas
- Palillos mezcladores descartables

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro" y está estrictamente reservado para uso profesional por personal calificado con comprobada competencia en inmunohematología.

No utilizar los reactivos fuera de la fecha de vencimiento. La azida puede reaccionar con las cañerías de plomo o cobre generando compuestos explosivos. Al eliminar el reactivo, se debe dejar correr grandes cantidades de agua.

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de química clínica.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

PROCEDIMIENTO

Estos reactivos han sido estandarizados según los procedimientos detallados a continuación; su desempeño en el uso mediante otras técnicas no puede ser garantizado. La suspensión de glóbulos rojos a ensayar debe ser preparada con solución fisiológica, PBS o LISS.

I- TECNICA EN PLACA

Preparar una suspensión de glóbulos rojos al 10%. Como alternativa puede emplearse una suspensión al 35-45% en plasma del mismo paciente o sangre entera.

1) Colocar en una placa limpia y rotulada, una gota de Reactivo Anti-A, Anti-B o Anti-AB monoclonal y agregar al lado 1 gota de suspensión de glóbulos rojos.

El gotero provisto dispensa un volumen de 50 ± 5 ul. Es importante que se mantenga la relación reactivo:células en todos los sistemas de ensayo.

2) Mezclar el Reactivo y los glóbulos con un palillo descartable cubriendo un área circular de 2 cm de diámetro y balancear la placa continuamente durante 2 minutos. Observar aglutinación visible macroscópicamente hasta los 2 minutos. La observación puede facilitarse si se emplea una fuente de luz difusa. No debe emplearse microscopio.

La prueba debe ser interpretada dentro de los 2 minutos

para evitar que el reactivo se seque por evaporación. Cuando se observa aglutinación débil debe repetirse la prueba utilizando la técnica en tubo (por centrifugación). Pueden agregarse 2 volúmenes de reactivo a 1 volumen de muestra para resaltar la aglutinación, sin riesgos de falsos positivos.

II- TECNICA EN TUBO (por centrifugación)

1) A una gota de Reactivo Anti-A, Anti-B o Anti-AB monoclonal colocada en un tubo de hemólisis rotulado, agregar 1 gota de suspensión de glóbulos rojos al 3-5%.

2) Mezclar y centrifugar 20 segundos a 1000 g.

3) Agitar el tubo para despegar las células y examinar macroscópicamente la presencia o ausencia de aglutinación. La observación puede facilitarse si se emplea una fuente de luz difusa.

III- TECNICA EN TUBO (por sedimentación)

1) A una gota de Reactivo Anti-A, Anti-B o Anti-AB monoclonal colocada en un tubo de hemólisis rotulado, agregar 1 gota de suspensión de glóbulos rojos al 3-5%.

2) Mezclar e incubar durante 60 minutos a temperatura ambiente.

3) Agitar el tubo para resuspender las células y examinar macroscópicamente la aglutinación. La observación puede facilitarse si se emplea una fuente de luz difusa.

Las reacciones en tubo deben ser leídas inmediatamente e interpretar los resultados sin demora.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Técnica en placa

Reacción positiva: los hematíes aglutinan en segundos y permanecen aglutinados al balancear la placa. Indica la presencia del antígeno eritrocitario correspondiente.

Reacción negativa: no se observa aglutinación a los 2 minutos, indicando ausencia del antígeno correspondiente.

Técnica en tubo

Lectura: golpear suavemente el tubo para desprender el sedimento y examinar macroscópicamente la presencia o ausencia de aglutinación.

Reacción negativa: no se observa aglutinación a los 2 minutos, indicando ausencia del antígeno correspondiente. La resuspensión de los glóbulos rojos es homogénea.

Reacción positiva: los hematíes aglutinan en segundos y permanecen aglutinados una vez resuspendidos. Indica la presencia del antígeno eritrocitario correspondiente.

En casos dudosos se recomienda esperar 2 minutos.

Todos los resultados obtenidos en las pruebas de glóbulos rojos (directas), excepto las realizadas sobre muestras de sangre de infantes, deben ser confirmadas por una prueba sobre suero (inversa), usando eritrocitos tipificados A₁, A₂, B y O. En la siguiente tabla se muestran los perfiles esperados:

Prueba directa (Glóbulos rojos)			Prueba inversa (Suero)				Grupo
Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Cél. A ₁	Cél. A ₂	Cél. B	Cél. O	
-	-	-	+	+	+	-	O
+	-	+	-	-	+	-	A
-	+	+	+	+	-	-	B
+	+	+	-	-	-	-	AB

Cualquier discrepancia entre las pruebas directa e inversa debe ser investigada y resuelta antes de informar el grupo sanguíneo.

METODO DE CONTROL DE CALIDAD

El control de calidad puede efectuarse ensayando glóbulos rojos tipificados. Debe realizarse un control de los reactivos al comienzo de cada jornada de trabajo con glóbulos rojos A₁, A₂, B y O.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Pueden obtenerse resultados erróneos debido a:

- Contaminación de los materiales empleados en la prueba.
- Temperatura incorrecta de incubación.
- Reducción del tiempo de incubación recomendado.
- Neonatos: los antígenos A y B no se encuentran totalmente expresados en el recién nacido. Por esta razón deben extremarse los cuidados, sobre todo en los prematuros.
- La reactividad Anti-A y Anti-B puede verse reducida y eventualmente estar ausente del suero o plasma de pacientes muy jóvenes, adultos mayores o inmunosuprimidos.
- Leucemias u otros desórdenes malignos.
- Pacientes recientemente transfundidos con cantidades sustanciales de sangre de grupo no idéntico, pueden mostrar una reacción serológica de campo mixto.
- Reacciones falsas positivas: se han observado problemas ocasionados en la tipificación de los grupos sanguíneos ABO debido a anticuerpos que reaccionan con drogas, colorantes, compuestos químicos o con partículas de sílica coloidal liberadas de vidrios de mala calidad.
- Aglutininas frías: en presencia de aglutininas frías, el lavado de los glóbulos rojos 4-6 veces con solución fisiológica, resulta generalmente suficiente para obtener células aptas para la tipificación. En muy raras ocasiones se requiere un calentamiento a 37°C durante 10 minutos antes de los lavados mencionados. Como control, se coloca una gota de estas células con 2 gotas de solución fisiológica. No debe producirse aglutinación.
- Las pruebas en lámina no están recomendadas para la determinación de subgrupos débiles.
- Si se emplea la técnica en tubo, una agitación excesiva puede disgregar las aglutinaciones débiles y producir resultados falso-negativos.
- Es importante emplear la fuerza g recomendada durante la centrifugación, ya que una excesiva centrifugación puede conducir a dificultades para resuspender el botón celular, mientras que una centrifugación insuficiente puede resultar en aglutinaciones que se disgregan con demasiada facilidad.
- La expresión de algunos antígenos eritrocitarios puede

disminuir en intensidad durante el almacenamiento, especialmente en aquellas muestras coaguladas o extraídas con EDTA. Los mejores resultados se obtienen con muestras frescas.

PRESENTACION

Anti-A monoclonal: frasco x 10 ml (Cód. 1443152).

Anti-B monoclonal: frasco x 10 ml (Cód. 1443154).

Anti-AB monoclonal: frasco x 10 ml (Cód. 1443153).

BIBLIOGRAFIA

- Wiener AS. - Blood Groups and Transfusion - Charles C. Thomas 1943.
- Moore, S. et al. - "Int. Symp. on Monoclonal Antibodies: Standardization of their Characterization and use" - París, France, 1983. Develop. Biol. Standard 57:49-59.
- Widmann F.K. ed Technical Manual 10th Ed Washington DC, American Association of Blood Banks 1990, Chapter 11.
- Race R. R and Sanger R. - Blood Groups in Man, 6th Edition Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975:178.
- Issitt P.D. Applied Blood Group Serology 3rd Edition, Montgomery Scientific Publications, Miami, Florida, USA, 1985, Chapter 10.
- Issit, P.D and Anstee, D.JApplied Blood Group Serology - 4th Ed. Montgomery Scientific Publications, 1998.
- Pittiglio DH, Baldwin AJ, Sohmer PR. - Modern blood banking and transfusion practices - Philadelphia: FA. Davis, 1987, c.1983.
- Walker Rh, ed. Technical manual. 11th edition. Bethesda: American Association of Blood Banks, 1993.
- Garraty G, Postoway N. et al. - Spontaneous agglutination of red cells with a positive direct antiglobulin test in various media. - Transfusion 24:214-217, 1984.
- Voak D., et al. - Monoclonal anti-A and anti-B development as cost effective reagents. - Med. Lab. Sci. 39, 109-122, 1982.
- Rouger Ph. et Salmon Ch. La pratique des groupes sanguins et groupes érythrocytaires, 1981.
- Mollison P.L ,Blood Transfusion - 10^{ème} édition Blackwell Science Ed., 1997.
- Moore S. et al. - A Mouse Monoclonal Antibody with Anti-A (B) Specificity Which Agglutinates AXCells. - Vox Sang, Vol. 47, pp. 427-434, 1984.
- Technical Manual of the American Association of Blood Banks. 10th edition 1990.

Símbolos

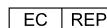
Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.



Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"



Elaborado por:



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Nocivo



Uso diagnóstico "in vitro"



Corrosivo / Cáustico



Contenido suficiente para <n> ensayos



Irritante



Fecha de caducidad



Consultar instrucciones de uso



Límite de temperatura (conservar a)



Calibrador



No congelar



Control



Riesgo biológico



Control Positivo



Volumen después de la reconstitución



Control Negativo



Contenido



Número de catálogo



Número de lote

Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Ribambra 2944
2000 - Rosario - Argentina
<http://www.wiener-lab.com.ar>
Dir. Téc.: Viviana E. Cetola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
Disp. N°: 1076/89 (Anti-A)
Disp. N°: 1073/89 (Anti-B)
Disp. N°: 1071/89 (Anti-A,B)



Wiener lab.

2000 Rosario - Argentina