

Para uso Profesional de Diagnóstico In Vitro.

INTRODUCCIÓN

EL SISTEMA SANGUÍNEO RH

Las observaciones de Levine y Statson en 1939 y de Landsteiner y Weiner, en 1940 contribuyeron enormemente a sentar las bases para el entendimiento del significado clínico y detección en un laboratorio del grupo Anti-D. Aproximadamente un 15% de la población caucásica carece del antígeno RhD+ve durante el embarazo o por transfusión sanguínea, produce fácilmente anti-D. Esto puede provocar enfermedades hemolíticas en el recién nacido o graves reacciones de transfusión hemolítica.

SEÑAL DEBILITADA DEL ANTIGENO RhD (Du)

Se utiliza mucho el término colectivo Du, cuando se trata de describir las células que tienen una señal debilitada de un antígeno D normal. Ensayos de laboratorio independientes han demostrado que alrededor de >80.0% de las células rojas catalogadas como Du fueron aglutinadas por el reactivo IgM Anti-D.

MATERIALES SUMINISTRADOS

1. Reactivo hemoclasificador Anti-D, frasco con 10 ml.
2. Instructivo.

ALMACENAMIENTO

NO CONGEE LOS REACTIVOS. Almacene a temperatura de entre 2° - 8°C. El mantener los reactivos fuera de este rango puede dar como resultado una aceleración en el tiempo de expiración del producto o una pérdida parcial o total de reacción.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Los procedimientos de ensayo recomendados para este reactivo se basan en la aglutinación de las células rojas que contienen el antígeno D en presencia de un anticuerpo Anti-D.
2. Todos los productos sanguíneos deben considerarse potencialmente infecciosos. El material donante humano, utilizado para la producción de este reactivo ha sido ensayado y comprobado, resultando ser negativo para anti-HIV 1&2, anti-HCV y HBsAg. Ningún protocolo de ensayo hasta ahora conocido, puede garantizar por completo que cualquier derivado de la sangre humana, no será susceptible de transmitir agentes infecciosos. Debe extremarse el cuidado durante el uso y desecho de los recipientes y de su contenido.
3. El reactivo contiene un 0.1% p/v de azida sódica. La azida sódica puede ser tóxica si se ingiere y puede reaccionar con las tuberías de plomo y cobre formando sales altamente explosivas. Para evitar lo anterior, lávese con abundante agua.
4. Este producto debe ser translúcido. Su turbidez podría ser indicativa de contaminación bacteriana.
5. Reactivo de diagnóstico sólo para estudios profesionales "In Vitro"

RECOMENDACIONES AL USUARIO

Se recomienda hacer un ensayo con un Control Positivo y un Control Negativo en paralelo con cada lote de ensayos. No es necesario utilizar un control en paralelo con el diluyente de los ensayos realizados con este reactivo. Sólo al establecer el tipo de células rojas de un paciente que se sepa que tiene auto-anticuerpos o anomalías en las proteínas, o un grado aparentemente bajo de D, se recomienda usar un control con el diluyente. Dicho control debería realizarse en paralelo con el reactivo.

ESTABILIDAD Y PRESENTACIÓN

Los sueros hemoclasificadores monoclonales para el sistema ABO son fabricados bajo las especificaciones de control más estrictas, lo que garantiza totalmente la estabilidad del reactivo aún después de abierto hasta la fecha marcada en la etiqueta del frasco, siempre y cuando éstos se almacenen entre 2° - 8°C cuando no estén en uso.

RECOLECCIÓN Y MANIPULACIÓN DE LAS MUESTRAS

Las muestras de sangre deben obtenerse asépticamente, con o sin la adición de anticoagulantes. Si se pospone el ensayo de las muestras de sangre, éstas deberían guardarse a 2°-8°C. Las muestras recogidas en EDTA o Heparina deben identificarse antes de que transcurran 48 horas una vez extraídas. Las muestras recogidas en ACD, CPD o CPDA-1 pueden identificarse hasta 35 días después de la toma de sangre.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

1. MÉTODO DEL PORTAOBJETOS

1. En plasma o suero autólogo (o compatible), o en una disolución salina isotónica, preparar una suspensión del 40%-50% de células rojas a ensayar.
2. Agregar una gota aprox. 40 microlitros) de Bio-AntiD IgM a un portaobjetos de microscopio limpio y etiquetado.
3. Agregar una gota de la suspensión de las células rojas a ensayar.

Mezclar el antisuero y las células en un área de 2 cm. de diámetro, basculando suave y continuamente el portaobjetos. Hacer un estudio macroscópico al cabo de 2 minutos. No confundir la sequedad de la muestra con la aglutinación.

2. MÉTODO DEL TUBO

1. En una disolución salina isotónica, preparar una suspensión del 3-5% de las células rojas a ensayar.
2. Agregar 1 gota de Bio-Anti D IgM en un tubo de ensayo etiquetado.
3. Agregar 1 gota de la suspensión de las células rojas.
4. Mezclar y centrifugar a 1000 r.c.f. durante 20 segundos o usando un método y un período alternativo equivalente.
5. Agitar suavemente el tubo para separar las células rojas y hacer un estudio macroscópico en busca de aglutinación.
6. Los ensayos aparentemente negativos deben incubarse a 37°C durante 15-30 minutos. Centrifugarse y examinarse (tal como se describe en los apartados 2.4 y 2.5)

MÉTODOS GENERALES EN MICROPLACA

3. MÉTODO DE RESUSPENSIÓN USANDO CUBETAS "U" VALIDADAS.

1. En una disolución salina isotónica que contenga 1% BSA, preparar una suspensión al 3-5% de células rojas a ensayar.
2. Agregar 1 gota (40microlitros) de Anti-D IgM en las cubetas apropiadas.
3. Agregar un volumen igual de la suspensión de células en la cubeta adecuada.
4. Mezclar el contenido de cada recipiente a mano o mediante un agitador de microplacas (el tiempo de agitación dependerá de la velocidad y la órbita del agitador).
5. Incubar las microplacas a temperatura ambiental durante 15-20 minutos. Este es un método general, los usuarios particulares podrán tener razones para reducir o incluso prescindir de la fase de incubación.

-
-
6. Centrifugar las microplacas durante unos 40 segundos a 100 r.c.f. o a una velocidad y período alternativos adecuados a la centrífuga utilizada.
 7. Volver a suspender las células rojas usando el agitador de microplacas durante un período y velocidad de agitación óptima.
 8. Leer los resultados macroscópicamente o con la ayuda de un lector automático.

4. MÉTODOS DE DIVISIÓN UTILIZANDO PLACAS DE CULTIVO "V" VALIDADAS.

Los pasos 1 al 2 (Apartado 4) son iguales a las descritas del 1 al 8 (Apartado 3).

1. Inclinar la microplaca formando un ángulo de aproximadamente 70° con la horizontal durante un minuto.
2. Hacer un estudio macroscópico de la reacción. Las reacciones negativas se arrastrarán por el borde inferior de las cubetas. Las reacciones positivas permanecerán formando un botón de células en el ápice de la cubeta en V.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO CON MICROPLACAS

Las microplacas de poliestireno rígidas suelen resultar más apropiadas que las microplacas de PVC. Cada lote de microplacas deberá ser valorado para su uso rutinario. Los lotes de microplacas que se presenten altos niveles de estática y vinculados con proteínas no específicas pueden tratarse sumergiéndolas en agua destilada o enjuagándolas con una disolución al 1% de albúmina bovina en una preparación salina, secándolas perfectamente antes de utilizarlas. Un período y velocidad de centrifugación inadecuada y una suspensión excesivamente vigorosa de las células centrifugadas puede tener un efecto adverso en el ensayo, provocando reacciones falsamente positivas, falsamente negativas.

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

Las células rojas VI de tipo D y ciertas células rojas D no serán aglutinadas directamente por este reactivo. Pueden producirse resultados falsamente positivos o negativos debido a la contaminación de los materiales de ensayo o cualquier desviación de las técnicas recomendadas.

Distribuido por:
Grupo Industrial MexLab S.A. de C.V.
01800-111-4343
www.grupomexlab.com