

Instructions for use



Sanquin Reagents B.V. Plesmanlaan 125 1066 CX Amsterdam The Netherlands	Phone: +31 20 5123599 Fax: +31 20 5123570 Reagents@sanquin.nl www.sanquin.org/reagents	
Pelikloon anti-A (IgM) monoclonal	REF K 1188	IVD C€ 0344
Pelikloon anti-B (IgM) monoclonal	REF K 1189	IVD C€ 0344
Pelikloon anti-A,B (IgM) monoclonal	REF K 1190	IVD C€ 0344
001_v04 07/2019 (es)	<i>Sólo para uso profesional</i>	

Reactivos hemoclasificadores para la detección de los antígenos A y/o B en las células rojas humanas

Información general

Los reactivos hemoclasificadores monoclonales Pelikloon anti-A, anti-B y anti-A,B (IgM) (los números de clones se mencionan en el certificado correspondiente de análisis/documento de venta) son preparados a partir de sobrenadantes de cultivo de líneas de células estables de hibridoma, tal como describieron por primera vez Köhler y Milstein (Nature 1975). Estos reactivos monoclonales contienen anticuerpos IgM murinos y han sido especialmente seleccionados y desarrollados para proveer una alternativa fiable a los reactivos policlonales. Estos reactivos cumplen con los requisitos de las normas y directrices correspondientes. Las características del funcionamiento se mencionan en los documentos de venta, que son entregados junto con el producto a solicitud. El principio del análisis es la técnica de aglutinación, que se basa en la reacción de los antígenos/anticuerpos. Los reactivos pueden usarse en un tubo de centrifuga o en una microplaca. Estos reactivos también resultan apropiados para el uso en sistemas de análisis automatizados y deberían ser estandarizados y validados por el usuario. Se recomienda encarecidamente la inclusión de controles positivos y negativos en cada serie de hemoclasificación. Al igual que se determina la hemoclasificación ABO de las células rojas, debería analizarse el suero del paciente para determinar la presencia de los aloanticuerpos anti-A y/o anti-B correspondientes, usando células rojas reactivas A1 y B (ver el anexo relevante en el embalaje).

Precauciones

Sólo para el uso diagnóstico in vitro. Se recomienda guardar los reactivos a 2–8°C. No usar los viales que pierden líquido o dañados. No usar los reactivos (abiertos o cerrados) después de la fecha de vencimiento, que aparece en la etiqueta del vial. NaN₃ 0,1% (w/v) se usa como conservante. Los reactivos anti-A y anti-B han sido coloreados para su reconocimiento más fácil. No se puede garantizar que los reactivos están libres de agentes infecciosos. Usar y desechar cada recipiente y su contenido con cuidado. Un aspecto turbio puede ser señal de contaminación microbiana. Para reconocer el deterioro del reactivo, se recomienda analizar el reactivo como parte del programa de control de calidad del laboratorio, realizando los controles adecuados. La eliminación de residuos después de concluir el análisis, debe realizarse conforme a las regulaciones de su laboratorio.

Recogida y preparación de las muestras

Las muestras de sangre deben retirarse de manera aséptica añadiendo o no anticoagulantes. Si el análisis de las muestras de sangre se demora, conservar a 2–8°C.

La preparación de la muestra se describe en los procedimientos de análisis respectivos.

Procedimientos de análisis

Método en tubo de centrifuga

Requisitos del tubo: tubos de cristal con fondo redondo; medidas 75 x 10/12 mm.

1. Preparar una suspensión celular del 3–5% de células rojas para su control en salina isotónica o en su propio plasma o suero.
2. Añadir al tubo de ensayo:
 - 1 gota de reactivo Pelikloon
 - 1 gota de la suspensión celular del 3–5%y mezclar bien.
3. Centrifugar durante 20 segundos a 1000 fcr o durante el tiempo apropiado de calibración de la centrifuga.
4. Resuspender las células agitando suavemente y examinar macroscópicamente la aglutinación.

Método en microplaca

Requisitos de la microplaca: microplacas de poliestireno con pocillos de fondo redondo

1. Preparar una suspensión celular del 2–3% para su análisis en salina isotónica en su propio plasma o suero.
2. Añadir en un pozo:
 - 1 gota de reactivo Pelikloon
 - 1 gota de la suspensión celular del 2–3%
3. Mezclar bien el contenido durante 5 segundos usando una centrifuga a 600–700 rpm.
4. Incubar durante 10–15 minutos a temperatura ambiente (18–25°C) sin agitar.
5. Centrifugar durante 10–20 segundos a 700 rcf o durante el tiempo apropiado para la calibración de la centrifuga.
6. Recentrifugar la microplaca durante 1–4 minutos en la centrifuga a 600–700 rpm o durante el tiempo necesario para resuspender totalmente las células en los pozos con reacciones negativas.
7. Dejar reposar la microplaca durante 1 minuto para permitir que se depositen las aglutinaciones más pequeñas.
8. Las reacciones pueden examinarse ahora macroscópicamente o usando un lector automático.

Interpretación

Una reacción positiva (es decir, aglutinación) indica la presencia del antígeno correspondiente. Una reacción negativa (es decir, aglutinación no visible) indica la ausencia del antígeno correspondiente. La hemoclasificación ABO viene determinada por el patrón de reacción obtenido con los distintos antisueños (ver tabla al dorso). Si el patrón de reacción no corresponde con una de las 4 combinaciones mencionadas aquí abajo, debe determinarse la causa de los resultados discrepantes antes de asignar un grupo sanguíneo ABO al paciente/donante en cuestión.

Reacciones de aglutinación en hemoclasificación rutinaria ABO

células rojas + reactivo hemoclasificador			suero/plasma + células rojas reactivas		
anti-A	anti-B	anti-A,B	células A1	células B	grupo sanguíneo (frecuencia)
0	0	0	+	+	O (46,7%) ⁴⁾
+	0	+	0	+	A (41,7%) ⁴⁾
0	+	+	+	0	B (8,6%) ⁴⁾
+	+	+	0	0	AB (3,0%) ⁴⁾

Limitaciones

Resultados positivos inesperados a causa de: pseudoaglutinación, autoaglutinación, reacción de aglutinación mixta, el uso de gelatina de Wharton junto con las células del cordón umbilical.

Resultados negativos o débiles inesperados a causa de: antígenos débiles, reacción de aglutinación mixta, actividad reducida del reactivo.

Las células con antígenos mutados pueden producir reacciones positivas o negativas inesperadas con muestras previamente tipificadas con reactivos de grupo sanguíneo de orígenes policlonales u otros orígenes monoclonales derivados de la estirpe celular.

Los resultados falsos positivos o negativos pueden ser originados por contaminación del material de análisis o por diferir del método recomendado.

Referencias

1. Widmann F.K. ed; AABB Technical Manual, 11th ed. 1993, Bethesda (MD).
2. Race R.R. and Sanger R.; Blood Groups in Man, 6th ed. Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975.
3. Issit P.D.; Applied Blood Group Serology, 3rd ed. Montgomery Scientific Publications, Miami, Florida, USA, 1985.
4. Daniels G.; Human Blood Groups. Blackwell Science Ltd. 1995.
5. Guidelines for the Blood Transfusion Service H.M.S.O. 2nd ed. 1993.
6. Reid M.E., et al. The Blood Group Antigen FactsBook, FactsBook Series, 3rd ed. 2012

Se garantiza que los productos Sanquin funcionarán tal como se describe en las instrucciones de uso del fabricante original. Es fundamental el cumplimiento estricto en relación a los procedimientos, los diseños de prueba y los reactivos y equipos recomendados. Sanquin rechaza toda responsabilidad que surja de cualquier desvío de ellos.