

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

PeliStrip elution kit

REF **K1398**

IVD **CE**

054_v02 01/2017 (es)

Sólo para uso profesional

Kit para eluir anticuerpos de eritrocitos



Almacenar en un lugar oscuro

Información general

PeliStrip elution kit se utiliza para realizar eluciones ácidas de anticuerpos de eritrocitos intactos.

Por ejemplo, para identificar anticuerpos en pacientes con una DAT (prueba de antiglobulina directa) positiva o para identificar anticuerpos aislados de suero o plasma aplicándoles un revestimiento *in vitro* en eritrocitos seleccionados.

El eluido se puede probar como suero o plasma para detectar e identificar anticuerpos.

Composición del kit

Elution Solution 1: Dos viales (tapón blanco) de 8 ml. Almacenar entre 18-25°C.

Neutralisation Solution 2: Un vial (tapón negro) de 12 ml. Esta solución amortiguadora de neutralización de Tris contiene BSA y se tiñe de azul para indicar el pH y facilitar su reconocimiento. Almacenar entre 18-25°C en un lugar oscuro.

Precauciones

Solo para uso diagnóstico *in vitro*.

El kit se debe almacenar entre 18-25°C. Neutralisation Solution 2 se debe almacenar en un lugar oscuro. El almacenamiento prolongado en sitios iluminados podría desteñir Neutralisation Solution 2. No debe utilizar la solución si el color de Neutralisation Solution 2 no es azul.

Neutralisation Solution 2 contiene 0,1% de NaN₃ (p/v) como conservante. No congelar.

Aunque se han realizado pruebas de enfermedades infecciosas en la seroalbúmina bovina y los resultados han sido negativos, no dé por supuesto que el reactivo no contiene agentes infecciosos. Tenga especial cuidado al utilizar y deshacerse de cada recipiente y su contenido.

No utilice las soluciones si estas están turbias, ya que podría indicar contaminación microbiana.

Los viales dañados o que presenten fugas no se deben utilizar.

El kit no se debe utilizar una vez alcance la fecha de caducidad, que se encuentra impresa en la etiqueta.

Tenga especial cuidado al utilizar y deshacerse de cada recipiente y su contenido.

La eliminación de desechos, tras finalizar la prueba, se debe llevar a cabo respetando las normativas del laboratorio.

Obtención de muestras

Las muestras de sangre se deben extraer de forma aséptica añadiendo anticoagulantes, preferiblemente EDTA. Si la prueba de las muestras de sangre se retrasa, las muestras se deben almacenar entre 2-8°C, a poder ser durante menos de 72 h.

Método de prueba

Los eritrocitos sensibilizados se lavan cuidadosamente con PBS (solución salina tamponada con fosfato) fría (entre 2-8°C) para eliminar todas las proteínas no retenidas y minimizar la disociación de anticuerpos ligados a las células.

Las células lavadas se mezclan con Elution Solution 1 para separar los anticuerpos. Tras el centrifugado el eluido se debe neutralizar con Neutralisation Solution 2.

Procedimiento de la prueba

Materiales necesarios pero no incluidos:

- *Requisitos de tubo: Tubos de vidrio de fondo redondo; tamaño 75 x 10/12 mm.*
- *PBS fría (entre 2-8°C).*

1. Centrifugue la muestra y extraiga todo el sobrenadante posible.
2. Lave al menos 1 ml de concentrado de eritrocitos sensibilizados 5 veces en PBS fría (entre 2-8°C) para eliminar los anticuerpos no retenidos. La alícuota debería ser suficiente para producir 1 ml de concentrado de eritrocitos tras finalizar el lavado. El último paso de centrifugado se debe realizar a una velocidad y en un intervalo de tiempo específicos de modo que se genere un concentrado de células, por ejemplo, 5 minutos a 3000 g o en función del protocolo del laboratorio.
Conserve parte de la última solución de lavado como control.
3. Utilice un tubo de ensayo de vidrio de 75 x 10/12 mm.
Para conseguir resultados óptimos es necesario trabajar SIN NINGÚN TIPO DE RETRASO hasta la neutralización (paso 6), reduciendo al máximo el tiempo de trabajo con pH bajo. Asimismo, se recomienda trabajar junto a una centrifugadora.
Añada 1 ml de concentrado de eritrocitos.
Añada 1 ml de Elution Solution 1 (tapón blanco).

Nota: Si hay menos de 1 ml de concentrado de eritrocitos disponible, el eluido se puede preparar añadiendo un volumen igualmente reducido de Elution Solution 1. Se debe utilizar un mínimo de 500 µL de concentrado de eritrocitos ya que un volumen menor podría generar falsos resultados.

4. JUSTO DESPUÉS DE AÑADIR Elution Solution 1, mezcle el contenido del tubo invirtiéndolo ligeramente 5 veces. Centrifugue inmediatamente durante 1 minuto a 1000 g o durante un periodo de tiempo y a una velocidad convenientes para que el centrifugado genere sedimentos o residuos de células.
5. TRANSFIERA DIRECTAMENTE el sobrenadante con la ayuda de una pipeta (de vidrio) limpia a un tubo de ensayo de vidrio limpio (se deben desechar los sedimentos, las células ya no se podrán utilizar más).
6. El eluido ácido SE DEBE NEUTRALIZAR INMEDIATAMENTE añadiendo Neutralisation Solution 2 (tapón negro) gota a gota hasta que el color azul permanezca tras añadir y mezclar la gota. El aspecto y la persistencia del color azul indica que el pH del eluido se ha ajustado en el intervalo deseado (6,6-7,4). El volumen de Neutralisation Solution 2 necesario puede variar en función de varios aspectos, el principal es el grado de hemólisis de los eritrocitos antes de la elución o debido a un largo periodo de tiempo con pH bajo durante la elución. Si el eluido ácido es rojo o marrón debido a la hemólisis de los eritrocitos, el aspecto del eluido se volverá turbio en lugar de azul al añadir Neutralisation Solution 2.
7. Centrifugue al menos 1 minuto a > 1000 g para eliminar el precipitado o los residuos de células durante un periodo de tiempo y a una velocidad convenientes para que el centrifugado genere sedimentos del precipitado y residuos de células. Transfiera el eluido con la ayuda de una pipeta (de vidrio) limpia a un tubo de ensayo de vidrio limpio.

El eluido ya está listo para las pruebas de anticuerpos con la técnica de aglutinación indirecta con PEG. Para utilizar otros procedimientos de pruebas de anticuerpos el usuario deberá validarlos en primer lugar.

Utilice el sobrenadante conservado del último lavado como control. Si las pruebas no se pueden realizar inmediatamente, el eluido se puede almacenar entre 2-8°C preferiblemente hasta 72 horas, pero en ningún caso más de 7 días. La turbidez puede indicar contaminación microbiana.

Interpretación de los resultados

Una reacción positiva (por ejemplo, aglutinación) del eluido indica que este contiene anticuerpos de eritrocitos (eluidos de los eritrocitos originales) contra los antígenos presentes en los eritrocitos de prueba.

Una reacción negativa (por ejemplo, ausencia de aglutinación) del eluido indica que este no contiene anticuerpos contra los antígenos presentes en los eritrocitos de prueba.

Si se sospecha de anemia hemolítica inducida por fármacos, el eluido se debe probar frente a las células sensibilizadas con el fármaco apropiado.

Limitaciones

Una reacción positiva (por ejemplo, aglutinación) de la solución de lavado conservada puede indicar la presencia de anticuerpos debido a un lavado inadecuado, lo cual puede interferir en la actividad del anticuerpo del eluido. Por lo tanto, se deberá repetir el procedimiento de elución tras lavar las células con PBS fría (entre 2-8°C) de una forma más minuciosa. Sin embargo, una reacción positiva de la solución de lavado conservada también podría indicar la presencia de anticuerpos de baja afinidad eluidos de las células durante el procedimiento de lavado.

Si el eluido muestra una reacción negativa (por ejemplo, ausencia de aglutinación) y los datos clínicos indican la presencia de anticuerpos con revestimiento, se recomienda encarecidamente el uso de otro método de elución alternativo.

Las muestras de sangre con más de 72 horas pueden generar eluidos menos potentes que las muestras más recientes.

La incubación prolongada en Elution Solution 1 puede producir hemólisis de los eritrocitos y desnaturalización de los anticuerpos eluidos.

Es posible encontrar reacciones positivas o negativas falsas debido a la contaminación de los materiales de la prueba o por no atenerse al procedimiento de la prueba u otras técnicas recomendadas descritas en las instrucciones de uso.

El intercambio entre Elution Solution 1 y Neutralisation Solution 2 se traducirá en reacciones negativas falsas o débiles.

Referencias

1. Engelfriet C.P. et al.; Immunohaematology, Sanquin Blood Supply Foundation, 2003.
2. Issitt P.D.; Applied Blood Group Serology, 4th ed. Montgomery Scientific Publications, 1998.
3. Mollison P.L. et al.; Blood Transfusion in Clinical Medicine, 9th ed. 1993.
4. Rekvig O.P., Hannestad K., Vox Sang. 33: 280-285, 1977.
5. Leger R.M. et al.; Transfusion 38:565-572, 1998.

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.