

Procedimiento cualitativo para la potenciación de las interacciones antígeno-anticuerpo

IVD
Conservar a 2 - 8°C.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Utilizando las técnicas recomendadas, el reactivo no afectará al primer estado de hemaglutinación (absorción del anticuerpo), pero potenciará el segundo estado (aglutinación) permitiendo que los hematíes recubiertos de anticuerpos se junten mejor entre ellos que en un medio salino sin aditivos (ver limitaciones).

SIGNIFICADO CLÍNICO

La Albúmina Serológica fue reconocida en 1945 por Diamond como potenciadora de ciertas interacciones antígeno-anticuerpo. Desde entonces, se han utilizado extensamente métodos para la detección o cuantificación de anticuerpos que emplean albúmina serológica. También se ha demostrado que la albúmina serológica puede potenciar la sensibilidad del test indirecto de antiglobulina para algunas especificidades del anticuerpo.

REACTIVOS

La Albúmina Serológica 22-30% está preparada a partir de una mezcla de suero de albúmina bovina y tampón salino. La cantidad de polímero de la Albúmina Bovina Serológica (BSA) ha sido incrementada naturalmente mediante un proceso de modificación. No se añade a ninguna preparación de BSA potenciadores artificiales de la avidéz o de la aglutinación de elevado peso molecular. Ninguno de los reactivos de BSA contiene caprilato de sodio. Cada reactivo es suministrado en la dilución óptima para su utilización en todas las técnicas aquí recomendadas sin necesidad de diluciones o adiciones suplementarias. Ver el lote y caducidad de cada referencia en la etiqueta del vial.

PRECAUCIONES

- Los reactivos son sólo para uso en diagnóstico *in vitro*.
- Si el vial del reactivo está roto o agrietado, descartar inmediatamente su contenido.
- No utilizar reactivos caducados (ver la etiqueta de vial).
- No utilizar reactivos que presenten precipitados.
- La manipulación del reactivo debe realizarse con la apropiada indumentaria de protección, tales como guantes desechables y bata de laboratorio.
- Los reactivos han sido filtrados a través de cápsulas 0.2 µm para reducir la carga biológica. Una vez abierto el vial, el contenido debe permanecer viable hasta la fecha de caducidad, siempre y cuando no haya una marcada turbidez la cual podría ser indicativa de deterioración o contaminación del reactivo.
- El BSA se ha obtenido de ganado vigilado libre de sospecha clínica de padecer Encefalopatía Espongiforme Bovina (BSE) y que no ha sido alimentado con pienso que tuviera proteína derivada de rumiante.
- Los reactivos contienen menos de 0.1% de azida sódica. La azida sódica puede ser tóxica, si se ingiere y puede reaccionar con cobre o plomo de las tuberías y formar azidas metálicas explosivas. En caso de eliminación del producto, hacerlo con abundante agua del grifo.
- Para mayor información sobre la eliminación del producto o descontaminación en caso de derrame, ver las fichas de seguridad.

NOTAS

- Los hematíes sensibilizados *in vitro* o *in vivo* con autoanticuerpos pueden aglutinar espontáneamente a concentraciones de albúmina serológica tan bajas como 6%. Por lo tanto es esencial establecer rutinariamente tests de control en los cuales se mezclan los hematíes con sólo la solución apropiada de albúmina serológica.
- Las técnicas antiglobulina sólo pueden considerarse válidas si todos los tests negativos reaccionan positivamente con hematíes sensibilizados con IgG.
- En las técnicas aquí recomendadas, un volumen es aproximadamente 40µl utilizando el gotero suministrado.
- La utilización de los reactivos y la interpretación de los resultados deben llevarse a cabo por personal cualificado y formado de acuerdo a los requisitos del país donde los reactivos están siendo utilizados.
- El usuario debe determinar la idoneidad de los reactivos para otras técnicas.

CONSERVACIÓN

No congelar. Los viales de reactivo deben ser conservados a 2-8°C. Almacenamientos prolongados, a temperaturas fuera de este rango, pueden provocar una aceleración de la pérdida de reactividad. El reactivo se mantiene estable hasta 7 días si se conserva a temperaturas que no excedan los 30°C.

MATERIAL NECESARIO

- Anti-globulina humana o anti-IgG.
- Lavador de células Coombs.
- Tubos de vidrio (10 x 75 mm o 12 x 75 mm).
- Hematíes sensibilizados con IgG.
- Suero AB Inerte.
- Tampón fosfato salino (PBS): NaCl 0.9%, pH 7.0 ± 0.2 a 22°C ± 1°C
- Centrífuga de tubos.
- Pipetas volumétricas
- Baño caliente o incubador de calor seco equilibrado a 37°C ± 2°C.

MUESTRAS

Para el tipado de antígenos debe utilizarse muestras de sangre recogidas con o sin anticoagulante. Si el test no se realiza de inmediato, conservar las muestras a 2-8°C. Las muestras en EDTA o citrato deben ser tipadas en 48 horas. Las muestras recogidas en ACD, CPD o CPDA-1 pueden ser testadas hasta 35 días desde su retirada. Todas las muestras de sangre deben ser lavadas con PBS al menos dos veces antes de realizar el test. Todas las muestras de sangre que muestren evidencias de lisis pueden dar lugar a resultados no fiables.

PROCEDIMIENTO

A. Técnica de Albúmina Inmediata

- Preparar una suspensión, de hematíes a testar lavados al 2-3%, en PBS.
- Añadir en un tubo identificado: 2 volúmenes del suero, de la suspensión de hematíes y de la Albúmina Serológica 22%.
- Mezclar minuciosamente y centrifugar los tubos durante 20 segundos a 1000 rcf (g) o a una fuerza y tiempo alternativos adecuados.
- Examinar si existe presencia de hemólisis en el sobrenadante, entonces resuspender cuidadosamente el botón celular y leer macroscópicamente por aglutinación.

B. Técnica de Albúmina a temperatura ambiente

- Preparar una suspensión, de hematíes a testar lavados, al 2-3% en PBS.
- Añadir en un tubo identificado: 2 volúmenes de suero, 1 volumen de suspensión de

hematíes y 2 volúmenes de Albúmina Serológica 22%.

- Mezclar minuciosamente e incubar a 18-25°C durante 5-30 minutos.
- Añadir en un tubo identificado: 2 volúmenes de suero, 1 volumen de suspensión de hematíes y 2 volúmenes de Albúmina Serológica 22%.
- Mezclar minuciosamente e incubar a 37°C durante 15-60 minutos.
- Centrifugar todos los tubos durante 20 segundos a 1000 rcf (g) o a una fuerza y tiempo alternativos adecuados.
- Examinar si existe presencia de hemólisis en el sobrenadante, entonces resuspender cuidadosamente el botón celular y leer macroscópicamente por aglutinación.

C. Técnica de Albúmina a 37°C

- Preparar una suspensión, de hematíes a testar lavados, al 2-3% en PBS.
- Añadir en un tubo identificado: 2 volúmenes de suero, 1 volumen de suspensión de hematíes y 2 volúmenes de Albúmina Serológica 22%.
- Mezclar minuciosamente e incubar a 37°C durante 15-60 minutos.
- Centrifugar todos los tubos durante 20 segundos a 1000 rcf (g) o a una fuerza y tiempo alternativos adecuados.
- Examinar si existe presencia de hemólisis en el sobrenadante, entonces resuspender cuidadosamente el botón celular y leer macroscópicamente por aglutinación.

D. Técnica antiglobulina indirecta (IAT)

- Seguir los pasos 1 hasta 3 del método anterior.
- Lavar los hematíes 4 veces con PBS, decantando cuidadosamente entre lavados la fase salina y resuspender cada botón celular después de cada lavado. Decantar completamente la fase salina después del último lavado.
- Añadir 2 volúmenes de anti-globulina humana a cada botón celular seco.
- Mezclar minuciosamente y centrifugar los tubos durante 20 segundos a 1000 rcf (g) o a una fuerza y tiempo alternativos adecuados.
- Resuspender cuidadosamente el botón celular y leer macroscópicamente por aglutinación.

E. Técnica de Titulación de Anticuerpos

- Preparar una suspensión de hematíes a testar lavados al 2-3% en Albúmina Serológica 22% de Spinreact.
- Preparar diluciones dobles del suero a testar en suero AB inerte.
- Añadir 1 volumen de la suspensión de hematíes a 1 volumen de cada dilución.
- Mezclar minuciosamente e incubar a 37°C durante 15-60 minutos.
- Centrifugar los tubos durante 20 segundos a 1000 rcf (g) o a una fuerza y tiempo alternativos adecuados.
- Resuspender cuidadosamente el botón celular y leer macroscópicamente por aglutinación.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

- Positivo:** La aglutinación de los hematíes a testar constituye un resultado positivo dentro de las limitaciones aceptadas para el procedimiento del test.
- Negativo:** La ausencia de aglutinación de los hematíes a testar constituye un resultado negativo dentro de las limitaciones aceptadas.

Estabilidad de las reacciones

- Los resultados de los tubos deben leerse inmediatamente después de la centrifugación.
- Las etapas de lavado deben completarse sin interrupción alguna y la centrifugación y lectura debe realizarse inmediatamente tras la adición de la antiglobulina humana. Los retrasos pueden suponer la disociación de los complejos antígeno-anticuerpo, causando falsos negativos o resultados positivos débiles.
- Los resultados, de tests realizados a otras temperaturas de las aquí recomendadas, deben ser interpretados con cautela.

LIMITACIONES

- Los hematíes que resultan positivos por DAT debido a un recubrimiento de IgG, no pueden ser tipados a través de la técnicas Antiglobulina Indirecta.
- Pueden aparecer falsos resultados positivos debido a que una pequeña proporción de muestras de suero presentan aglutininas para la albúmina.
- La eficacia del reactivo de albúmina debe ser controlada a través de su uso.
- La Albúmina Serológica no potenciará la reactividad de todos los anticuerpos de los grupos sanguíneos.
- La Albúmina Serológica no debe usarse como control negativo para reactivos de grupaje sanguíneo con IgG potenciados.
- Puede también ocurrir falsos resultados positivos o negativos debido a:
 - Contaminación de los materiales del test.
 - Conservación inadecuada, concentración celular, tiempo o temperatura de incubación.
 - Centrifugación inapropiada o excesiva.
 - Introducción de suero humano/globulinas gamma en el test.
- El usuario es responsable del funcionamiento de los reactivos en cualquier otro método distinto de los mencionados como técnicas aquí detalladas.
- Cualquier desviación de las técnicas aquí recomendadas debería ser validada antes de su utilización.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

- Los reactivos han sido caracterizados para todos los procedimientos aquí mencionados.
- Previamente a su liberación, se ha demostrado que cada lote de Albúmina Serológica 22 y 30% potencia la aglutinación de los anticuerpos Rh y otros, cuando se usa de acuerdo a las técnicas aquí recomendadas.
- La especificidad de cada lote se asegura en un sistema de anticuerpos libres con hematíes que poseen antígenos de los grupos sanguíneos más frecuentes.
- El Control de Calidad de los reactivos se llevó a cabo utilizando hematíes lavados en PBS, previa utilización.
- Los reactivos cumplen las recomendaciones de la última versión de las Guías para los Servicios de transfusión de sangre del Reino Unido.

BIBLIOGRAFÍA

- Widman FK. Technical Manual, 9 Edition. American Association of Blood Banks, Arlington, VA, 1985; Chapter 2.
- Race RR, Sanger R. Blood Groups in Man, 6 Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1975; Chapter 2
- Mollison PL. Blood Transfusion in Clinical Medicine, 8 Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1987; Chapter 7
- Isitt PD. Applied Blood Group Serology, 3 Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. H.M.S.O. Fourth Edition 2000, Section 3.
- 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, 1995, 5, 145-150.

PRESENTACIÓN

Albúmina Bovina 30%	Ref.:1700071	10mL
Albúmina Bovina 22%	Ref.:1700072	10mL