

SOLUCION DE ALBUMINA BOVINA 22%

Reactivo Serológico

IVD Para uso de diagnóstico *in vitro*

10°C
1°C

Incluye Instructivo de Uso



Dañino, contiene 0.1% Azida de sodio

No lo utilice si esta turbio

No existe estándar US de potencia

PRECAUCION: EL EMPAQUE DE ESTE PRODUCTO (BULBOS GOTEROS) CONTIENE GOMA NATURAL TEÑIDA.



Immucor, Inc.
3130 Gateway Drive
Norcross, GA 30071 USA

EC REP

Immucor Medizinische Diagnostik GmbH
Robert-Bosch-Strasse 32
63303 Dreieich, Alemania.

Uso: La solución de Albúmina bovina al 22% de Immucor es utilizada como potenciador proteico en procedimientos de compatibilidad, identificación y titulación de anticuerpos.

Resumen: La solución de albúmina bovina fue reconocida primero como potenciador de ciertas interacciones antígeno-anticuerpos en 1945, cuando Diamond y colaboradores mostraron que ciertos anticuerpos del sistema Rh "incompletos" actúan como aglutininas en la presencia de Albúmina^{1,2}. Desde entonces estos métodos que emplean albúmina bovina han sido extensamente utilizados para la detección o cuantificación de anticuerpos.

La Albúmina Bovina puede ser utilizada en pruebas de compatibilidad y detección de anticuerpos, identificación y procedimientos de titulación para favorecer la aglutinación de los eritrocitos frente a ciertos anticuerpos.

Principio: Se considera que la aglutinación de los eritrocitos ocurre en dos distintas pero sucesivas etapas. En la primera etapa, los anticuerpos se unen a sus antígenos respectivos (sensibilización). Durante la segunda etapa ocurre la aglutinación ya que los anticuerpos fijos presentan una reacción cruzada con los eritrocitos sensibilizados. Algunas moléculas de anticuerpos, en particular aquellas de la clase IgM, son capaces de completar tanto la primera como la segunda etapa en sistemas de prueba en salina o suero (aglutinación o "anticuerpos completos"). Otros, la mayoría anticuerpos IgG son capaces de completar sólo la primera etapa (sensibilización por "anticuerpos incompletos"). Cuando la albúmina se presenta en cantidad suficiente en el sistema de prueba, permite que algunos anticuerpos sensibilizados completen la segunda etapa de aglutinación.^{1,4}

Reactivos:

El reactivo de Albúmina Bovina al 22% de Immucor está preparado a partir de albúmina sérica bovina. Cada solución es para ser utilizada tal y como se proporciona. Estos reactivos no contienen estabilizadores (ej. Caprilato de sodio), se obtienen de ganado de los EEUU libre de enfermedad, inspeccionado y certificado por el Servicio de Inspectores Veterinarios de USA (US Veterinary Services Inspectors). Todos los animales donantes son originarios de EEUU, país en el cual se desconoce la existencia de la Encefalopatía Espongiforme Bovina.

La azida de sodio (concentración final del 0.1%) esta adicionada como conservador.

No existe un estándar de potencia.

Precauciones:

Para uso de diagnóstico "In-Vitro".



Este reactivo contiene azida de sodio 0.1%. Advertencia: Peligroso si se ingiere.

La azida de sodio puede reaccionar con el plomo o el cobre de las tuberías formando componentes explosivos. Si se vierte directamente en el desagüe, enjuagar con gran cantidad de agua para evitar la formación de residuos de azidas.

Almacene de 1-10°C cuando no se utilice. No congele o exponga a elevadas temperaturas. Evite la contaminación del reactivo durante su uso. La contaminación afectará adversamente el funcionamiento del producto durante su vida útil. Una turbidez marcada puede indicar deterioro en el reactivo o contaminación. No utilice reactivos

SOLUCIÓN DE ALBUMINA BOVINA 22%

Reactivo Serológico

IMMUCOR

contaminados. No utilice si ha llegado a su fecha de caducidad. No utilice si el frasco presenta fugas o esta sin etiqueta. Manejar como si fuera potencialmente peligroso.

PRECAUCION: EL EMPAQUE DE ESTE PRODUCTO (BULBOS GOTEROS) CONTIENE GOMA NATURAL TEÑIDA.

Recolección y Preparación de la Muestra:

Suero o Plasma: Extraer una muestra de sangre utilizando una técnica de sangrado adecuada. Con este reactivo se puede utilizar suero fresco o plasma (EDTA, ACD, CPD, CPDA-1, CP2D). Las pruebas se deben de realizar tan pronto como sea posible después de la extracción para minimizar la posibilidad de obtener resultados falsos positivos o negativos debido a contaminación o inadecuado almacenamiento de la muestra. Las muestras que no puedan ser probadas en las primeras 24 horas deben almacenarse de 1-10°C con la mayor brevedad posible. Alternativamente, el suero o plasma puede ser separado de los eritrocitos y congelarse. Los anticuerpos de reacción débil pueden deteriorarse y hacerse indetectables al ser probados utilizando muestras almacenadas a temperatura ambiente durante varios días o en muestras almacenadas por un largo periodo de 1-10°C. No utilizar muestras extraídas en tubos con gel separador neutro. Con dichas muestras pueden aparecer resultados falsamente positivos.

Procedimiento:

Materiales Proporcionados:

Solución de Albúmina Bovina al 22%

Materiales adicionales requeridos:

1. Muestra del donador o paciente
2. Reactivo de Eritrocitos (para detección o identificación) o eritrocitos del donador.
3. Tubos de prueba de 10 x 75mm o 12 x 75mm y gradilla para tubos.
4. Pipetas.
5. Pipetas serológicas de 0.2 mL a 1.0 mL y puntas de pipeta (procedimientos de titulación)
6. Solución Salina isotónica o Solución Salina Isotónica fosfato regulada (aproximadamente 15 mM), pH 6.5-7.5.
7. Anti-globulina humana conteniendo anti-IgG.
8. Células Control de Antiglobulina (eritrocitos sensibilizados con IgG (ej Checkcells®).
9. Baño a 37°C o bloque de calor seco.
10. Centrífuga serológica*.
11. Cronómetro.
12. Marcador.

*Es responsabilidad del usuario validar un accesorio adicional para su uso (tanto el listado como cualquier otro). Los resultados de las validaciones deben mantenerse como parte de los registros del laboratorio para su revisión por el sistema de auditoría interna.

Métodos de Prueba:

Los procedimientos detallados a continuación son utilizados como guía. Puede ser conveniente modificar este procedimiento para cumplir con los requerimientos o procedimientos de operación estándar internos de los laboratorios usuarios. Sin embargo la Albúmina Bovina de Immucor esta fabricada para ser utilizada en las cantidades o proporciones especificadas.

A. Procedimiento para la detección, Identificación de Anticuerpos o Prueba de Compatibilidad.

1. Marque un tubo de prueba para cada reactivo de células rojas o unidad de donador a ser probada y, si se lleva a cabo, un tubo adicional para un control autólogo.
2. Coloque 2-3 gotas del suero a probar dentro de cada tubo.
Nota: El uso de 3 gotas de suero puede incrementar la reactividad antígeno-anticuerpo por lo tanto aumentará la sensibilidad.
3. Adicione una gota de una suspensión del 3-5% de reactivo de células rojas, células rojas de donador o células autólogas a los tubos adecuadamente marcados. Mezcle el contenido de cada tubo completamente.
4. Centrifugue cada tubo.* Examine la presencia de hemólisis en el sobrenadante. Resuspenda suavemente cada botón celular y examine la aglutinación. Registre los resultados (FASE DE SALINA INMEDIATA).

5. Adicione 2 gotas de Albúmina Bovina al 22% a cada tubo. NOTA: Si se desea, todos los tubos pueden ser incubados a temperatura ambiente (18-30°C) por 5-30 minutos, centrifugue y examine la aglutinación después de la adición de un agente potenciador o incubación a 36-38°C (FASE DE SALINA A TEMPERATURA AMBIENTE).
6. Mezcle el contenido de cada tubo completamente. Incube a 36-38°C por 30-60 minutos. **Nota:** La reactividad esperada puede ser reducida si la incubación no se realiza dentro de los rangos establecidos para la temperatura y tiempo. Las reacciones pueden aumentar incubando en el tiempo máximo permitido.
7. Centrifugue cada tubo.* Examine la presencia de hemólisis en el sobrenadante. Resuspensión suavemente cada botón celular y examine la aglutinación. Registre los resultados (FASE DE ALBUMINA A 37°C).
8. Lave las células rojas un mínimo de 3 veces con salina, teniendo cuidado de decantar completamente después de cada lavado.
9. Adicione Anti-globulina humana sérica a cada tubo en la cantidad especificada en el instructivo del fabricante. Mezcle el contenido de cada tubo completamente.
10. Centrifugue cada tubo.* Resuspensión suavemente cada botón celular y examine la aglutinación. Registre el resultado. (FASE DE ANTI-GLOBULINA). Las reacciones negativas pueden ser examinadas con ayuda óptica.
11. Confirme la validez de todas las reacciones negativas o débilmente positivas con eritrocitos sensibilizados con IgG.

* Tiempo de centrifugación sugerido: 15-30 segundos a 3400 rpm (RCF 900-1000 x g).

B. Procedimiento de Titulación de Anticuerpo (Titulación Individual) Utilizando Albúmina Bovina al 22%.

1. Marque 10 tubos de prueba del 1 al 10.
2. Adicione 0.1 mL de suero humano normal (grupo AB o grupo compatible) del tubo No. 2 al 10.
3. Adicione 0.1 mL de suero a probar al tubo 1 y 2. Mezcle el contenido del tubo 2 completamente.
4. Utilizando una pipeta limpia, transfiera 0.1 mL del contenido del tubo 2 al tubo 3. Mezcle completamente el contenido del tubo 3. Continúe con el mismo procedimiento para el tubo 4 – 10.
5. Remueva 0.1 mL del tubo 10 y consérvelo en caso de ser necesaria una titulación mayor.
6. Del tubo 1-10 adicione 2 gotas de eritrocitos lavados apropiadamente preparados en una suspensión al 2% en albúmina bovina al 22%.
7. Mezcle completamente el contenido de todos los tubos e incube a 36-38°C por 30 a 60 minutos.
8. Centrifugue cada tubo.* Resuspensión suavemente cada botón celular y examine la aglutinación. Registre el resultado (TITULACION EN FASE CON ALBUMINA).
9. En aquellos tubos en los cuales los eritrocitos no son fuertemente aglutinados pueden ser convertidos a la prueba de antiglobulina (TITULO ANTIGLOBULINA).

*Tiempo de centrifugación sugerido: 15-30 segundos a 900-1000 x g, o un tiempo y velocidad apropiados a la centrífuga utilizada que produzca una reacción lo suficientemente fuerte entre el anticuerpo y los eritrocitos antígeno positivos y al mismo tiempo que permita una fácil resuspensión de los eritrocitos antígeno negativos.

Estabilidad de la Reacción:

Seguido de la centrifugación, todos los tubos deben ser leídos inmediatamente y los resultados deben ser interpretados sin retraso. La demora puede resultar en una disociación de los complejos antígeno-anticuerpo, originando reacciones falsamente negativas o es más, débilmente positivas.

Control de Calidad:

La especificidad de este producto se puede checar periódicamente incluyéndolo en un procedimiento de detección de anticuerpo el cual prueba un anticuerpo conocido potenciado debido a la acción de la albúmina con eritrocitos antígeno positivo y antígeno negativo. La albúmina bovina puede ser considerada como satisfactoria para su uso si sólo las células antígeno positivas son aglutinadas.

Resultados:

Prueba Positiva: Aglutinación de los eritrocitos en cualquier fase o hemólisis en las fases de salina o potenciación de la prueba.

Prueba Negativa: No aglutinación o hemólisis durante todo el procedimiento de prueba.

El título final es la recíproca de la dilución más alta del suero que causa aglutinación macroscópica de 1+ o mayor. Para poder asignar un punto final de titulación, al menos la última dilución de la titulación debe producir un resultado claramente negativo. Si no se obtiene un resultado negativo con la dilución más alta probada, extender las diluciones utilizadas en la prueba (ej. si se obtiene una reacción positiva en el tubo 10 (dilución 1:512) probar diluciones adicionales de 1:1024 y 1:2048.

Limitaciones:

Resultados de prueba falsamente positivos o negativos pueden ocurrir a partir de contaminación bacteriana de los materiales de prueba, tiempos de incubación o temperaturas inadecuadas, centrifugación inapropiada, lavado de las células rojas inadecuadas, almacenamiento inapropiado de los materiales de prueba y omisión del suero antiglobulina o suero de prueba.

Las reacciones positivas obtenidas con muestras almacenadas pueden ser más débiles que aquellas obtenidas con muestras frescas.

Anticoagulantes del plasma pueden interferir en la detección de anticuerpos complemento dependientes.^{5,6} Pueden también desarrollarse coágulos de fibrina e interferir en las pruebas en que se utiliza plasma.

Se sabe que la albúmina bovina incrementa la reactividad de algunos anticuerpos, sobre todo aquellos del sistema Rh.¹⁻⁴. Sin embargo, no favorecerá la reactividad de todos los anticuerpos de grupo sanguíneo. Ningún procedimiento de prueba es capaz de detectar todos los anticuerpos irregulares anti-eritrocitos.

Las células fuertemente cubiertas con inmunoglobulinas pueden aglutinar espontáneamente en presencia de albúmina bovina al 22%.

La albúmina bovina al 22% no debe ser utilizada como control negativo para probar sueros que contienen concentraciones altas de proteínas, ej. Antisueros Rh para uso en pruebas en placa o en tubo rápidas.^{7,8}. Estos reactivos tipificadores son más propiamente controlados a través del uso de reactivos Control Rh específicamente preparados que contienen proporciones similares de albúmina y otros aditivos.⁵

Características Específicas de Funcionamiento:

Previamente a la distribución, cada lote de Albúmina Bovina de Immucor se prueba siguiendo el protocolo de trabajo. El rendimiento de este producto depende del correcto seguimiento de la metodología recomendada en el protocolo de trabajo.

Bibliografía:

1. Diamond LK, Denton RL. Rh agglutination in various media with particular reference to the value of albumin. J. Lab. Clin. Med. 1945; 30:821.
2. Cameron JW, Diamond LK. Chemical, clinical and immunological studies on the products of human plasma fractionation. XXIX. Serum albumin as a diluent for Rh typing reagents. J Clin Invest 1945; 24:793.
3. Steane EA. Reed blood cell agglutination: a current perspective, in: Seminar on antigen-antibody reactions revisited. Washington DC: American Association of Blood Banks 1982:67.
4. Case J. Potentiators of agglutination, in: Seminar on antigen-antibody reactions revisited. Washington DC: American Association of Blood Banks 1982:99.
5. Brecher, ME. ed. Technical manual. 15th ed. Bethesda MD: AABB, 2005.
6. Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. Blood transfusion in clinical medicine. 9th ed. Oxford: Blackwell Scientific, 1993.
7. White WD, Issitt CH, McGuire D. Evaluation of the use of albumin controls in Rh typing. Transfusion 1974; 14:67.
8. Reid ME, Ellisor SS, Frank BA. Another potential source of error in Rh-typing. Transfusion 1975; 15:485.

