

Confirmación del anti D. Ortho Workstation- Ortho BioVue - Ortho Vision

FECHA: 06/Nov/2014

**1. Objeto**

Prueba cualitativa con anticuerpo monoclonales-policlonales para reconocer el antígeno D ( RH 1) en hematíes humanos.

**2. Alcance**

Esta prueba la realiza el bacteriólogo y aplica para la sede Centro y sede Tesoro.

**3. Principio del procedimiento**

El principio empleado con este reactivo se basa en el principio de la aglutinación. Los hematíes humanos normales, que poseen antígenos, se aglutinarán en presencia de un anticuerpo dirigido contra un antígeno específico.

Las pruebas con el Reactivo BioClone Anti D (RH1), se usan para determinar si los hematíes poseen o carecen del antígeno del grupo sanguíneo D. Este reactivo detectará los hematíes D VI en la prueba para D débil (Antiglobulina indirecta).

**4. Reactivo**

Ortho-Clinical Diagnostics, Inc. Suministra el reactivo BioClone Anti-D (RH 1) (mezcla monoclonal- policlonal humana) para pruebas en porta, tubo y microplaca.

Este es un reactivo con bajo contenido en proteínas preparado a partir de una línea celular de heterohibridoma humano/de roedor que secreta IgM Anti D humana mezclada con IgG Anti D humana. Este reactivo contiene como conservante azida sodica al 0,1 % (p/v), fosfato sódico, cloruro sódico y albúmina bovina al 6 %-8 % con caprilato sódico como estabilizante.

**Conservación**

Entre 2 °C y 8 °C

Puede mantenerse a temperatura ambiente (15 °C a 30 °C) mientras se está usando. Tapar de nuevo cuando no se utiliza.

**5. Obtención y preparación de las muestras**

No se requiere una preparación especial del paciente o donante antes de obtener la muestra. La sangre se extraerá con una técnica médica correcta. La sangre debe utilizarse para la realización de las pruebas lo antes posible tras su obtención. Si se produce un retraso en la realización de la prueba debe conservarse entre 2 °C y 8 °C. La sangre conservada en heparina debe utilizarse para las pruebas antes de dos días. Las muestras coaguladas y la sangre extraída en citrato sódico o EDTA deben ser utilizadas para las pruebas antes de 14 días. La sangre de los donantes debe ser utilizada para las pruebas hasta la fecha de caducidad.

**6. Materiales y suministros**

- \* Tubos de ensayo
- \* Pipetas Pasteur
- \* Centrifuga
- \* Solución salina
- \* Incubador, 37 °C
- \* Globulina Anti humana conteniendo Anti- IgG
- \* Células para el control de antiglobulinas.

**7. Método en tubo de ensayo**

1. Preparar una suspensión de hematíes al 3 % o 5 % en una solución salina fisiológica o en su propio suero o plasma.
  2. Añada una gota de reactivo Anti D (RH1) BioClone al tubo de ensayo.
  3. Con la ayuda de una pipeta de transferencia añada una gota de la suspensión celular al tubo de ensayo.
  4. Mezclar bien y centrifugar el tubo de ensayo. El tubo de ensayo se puede centrifugar inmediatamente o dejarse reposar a temperatura ambiente (15 °C a 30 °C) hasta 15 min antes de la centrifugación.
- Centrifugación sugerida aproximadamente 15 s a 30 s, a 3400 rpm (900-1000 rcf) o 1 min a 1000 rpm (100-124 rcf).

**Nota:** La fuerza centrífuga aplicada a los hematíes y reactivo debe ser la mínima necesaria para obtener un "botón" de hematíes y un sobrenadante claro.

**5. Volver a suspender completamente los hematíes agitando suavemente y comprobar si existe aglutinación macroscópica. Anotar los resultados.**

**6. Si no se observa aglutinación y se desea la determinación de un antígeno D débil, deberá seguirse el método de la prueba antiglobulina indirecta (D débil).**

**Nota:** Todos los resultados deben ser interpretados inmediatamente tras la centrifugación y resuspensión.

La centrifugación excesiva provoca que los hematíes se adhieran al tubo de ensayo por lo que es necesario agitar

vigorosamente para que vuelvan a estar en suspensión. Durante dicha agitación una aglutinación débil podría dispersarse lo que llevaría a pasar por alto una reacción positiva.  
La centrifugación insuficiente puede dar lugar a una reacción débil o negativa.

#### 8. Método de la prueba de la antiglobulina indirecta

1. Prepare una suspensión de hematíes del 3 % al 5% en una solución salina fisiológica o en su propio plasma o suero.
2. Añada una gota de reactivo Anti D (RH1) BioClone al tubo de ensayo.
3. Con la ayuda de una pipeta de transferencia, añada una gota de la suspensión celular al tubo de ensayo. mezcle bien.
4. Incubar la prueba a 37 °C +/- 1 °C durante mínimo 15 min y máximo 60 min.
5. Despues de la incubación, lavar las células tres veces con los tubos llenos de solución salina fisiológica. Decantar completamente tras el último lavado.
6. Añada dos gotas de la antiglobulina humana con Anti Ig G.
7. Mezclar suavemente el contenido del tubo de ensayo y centrifugarlo.
8. Volver a suspender los hematíes agitando con suavidad y comprobar si existe aglutinación macroscópica.

#### 9. Control de calidad

se realiza para conatar el deterioro del reactivo, el rendimiento esperado se basa en la reactividad demostrada de los controles positivo y negativo heterocigoticos (cada día de uso)

Control positivo: usar hematíes conocidos por poseer el antígeno frente al cual se dirige el anticuerpo del reactivo.

Control negativo: usar hematíes conocidos por carecer del antígeno frente al cual se dirige el anticuerpo del reactivo.

#### 10. Interpretación de los resultados

Resultados positivos: La aglutinación de los hematíes es un resultado positivo de la prueba e indica la presencia de el antigeno correspondiente.

Resultados negativos: la no aglutinación de los hematíes corresponde a un resultado negativo de la prueba e indica que no es demostrable la presencia del antígeno correspondiente.

#### 11. DETERMINACIÓN DEL ANTI D EN CASSETTE CDE

##### \* Introducción

El antígeno D es capaz de estimular la producción de anticuerpos Anti- D en personas que carecen del antígeno D. El anticuerpo anti D es un anticuerpo Clinicamente significativo, capaz de provocar la destrucción de los hematíes y dar lugar a una enfermedad hemolítica del recien nacido (HDN) y reacciones de transfusión. Por lo tanto, el antígeno D se tiene en cuenta habitualmente en la selección sistemática de la sangre para transfusión y para el tratamiento con inmunoglobulina Anti-D.

El reactivo Anti-CDE se utiliza para identificar los hematíes Rh negativo: las células que carecen de los antígenos D (RH1), C (RH2) y E (RH3).

#### 12. Principios del procedimiento

Los procedimientos utilizados con estos reactivos se basan en el principio de aglutinación. Los hematíes humanos normales que poseen antígenos, aglutinarán en presencia del anticuerpo dirigido contra el antígeno. El sistema BioVue de ORTHO

#### 13. Principio del procedimiento

Los procedimientos utilizados en estos reactivos se basan en el principio de aglutinación. Los hematíes humanos normales que poseen antígenos aglutinan en presencia del anticuerpo dirigido contra el antígeno. El sistema BioVue de Ortho utiliza la tecnología de aglutinación en columna, que consta de esferas de vidrio y reactivos contenidos en una columna. Al añadir los hematíes y centrifugar posteriormente el cassette, los hematíes aglutinados quedan atrapados por las esferas de vidrio y los hematíes no aglutinados se desplazan hacia la parte inferior de la columna.

##### \* Reactivos

Los cassettes del sistema de determinación del grupo sanguíneo ABO-Rh BioVue Ortho constan de 6 columnas que contienen una solución tamponanda con albúmina bovina y potenciadores macromoleculares, así como los conservantes azida sódica al 0,1 % (p/v) y ácido etilendiaminotetraacético 0,01 M (EDTA).

#### 14. Referencia

InsertoAnti D (RH1) ( Human Monoclonal-Polyclonal Blend) BioClone. Revised Mayo 2006. ORTHO.

VERSIÓN	FECHA	RAZON DE LA ACTUALIZACION
01	06/Nov/2014	Se actualiza según la tecnología en uso
01	09/Feb/2016	Se revisa y no se modifica
01	17/Feb/2017	Se revisa y no se modifica.
01	16/Ene/2018	Se revisa y no se modifica.
01	18/Mar/2019	Se adiciona en el título Ortho vision pero no se modifica la versión porque no se modifica el contenido del instructivo.
01	27/Ene/2020	Se revisa y no se modifica.
01	15/Ene/2021	Se revisa y no se modifica

01	10/Ene/2022	Se revisa y no se modifica
01	12/Ene/2023	Se revisa y no se modifica.
01	11/Ene/2024	Se revisa y no se modifica.
01	20/Ene/2025	Se revisa y no se modifica.



ELABORO	REVISO	APROBO
<b>Nombre:</b> Gloria Patricia Tirado Zapata <b>Cargo:</b> Coordinador(a) de Calidad <b>Fecha:</b> 06/Nov/2014	<b>Nombre:</b> Sandra Milena Arango Vanegas <b>Cargo:</b> Bacteriólogo(a) de Banco de sangre <b>Fecha:</b> 07/Nov/2014	<b>Nombre:</b> Carlos Gonzalo Robledo Restrepo <b>Cargo:</b> Director General <b>Fecha:</b> 07/Nov/2014

COPIA CONTROLADA