

	INSTRUCTIVO PARAMETRIZADO	VERSION: 7
		CODIGO: IT-BS-37
Realización de pruebas de compatibilidad por el sistema Ortho Workstation- Ortho BioVue - Ortho Vision		FECHA: 05/Sep/2023

1. Objeto

Detectar la compatibilidad o incompatibilidad in vitro entre los anticuerpos presentes en el suero del receptor y los glóbulos rojos del donante.

2. Alcance

Desde que la muestra llega al servicio de gestión pretransfusional hasta que se valida el resultado.

3. Enfoque diferencial

No aplica

4. Talento Humano

Bacteriólogos o Microbiólogos

Los bacteriólogos y microbiólogos tienen la competencia para realizar esta prueba. Esta prueba esta evaluada por la dirección de acuerdo a los entrenamientos proporcionados y la evaluación de las competencias.

5. Equipo Biomédico

- 1. Micropipeta Sistema Ortho BioVue.
- 2. Incubador.
- 3. Instrumento de medición de inmunohematología.

6. Medicamentos

No aplica

7. Dispositivos médicos e insumos

- 1.Tubos
- 2.Guantes
- 3.Centrifuga
- 4.Puntas de pipetas desechables.

8. Propósito del análisis

La globulina antihumana se utiliza en las pruebas de antiglobulina para demostrar la presencia o ausencia de inmunoglobulina en la superficie de los hematíes. Los hematíes que absorben globulina se denominan sensibilizados. La globulina que provoca la sensibilidad puede ser gammaglobulina (anticuerpo) y/o betaglobulina (componentes del complemento). La prueba directa de antiglobulina indica si los hematíes se han sensibilizado in vivo o no. Los hematíes simplemente se liberan de proteínas séricas no ligadas antes de ser analizados con la globulina antihumana. La prueba indirecta de antiglobulina requiere que los hematíes se incuben con suero para permitir que se produzca la sensibilización in vitro, antes de liberarlos de las proteínas séricas no ligadas y del análisis con globulina antihumana.

9. Principio del procedimiento

El sistema Ortho utiliza la tecnología de la aglutinación en columna, que consta de esferas de vidrio y reactivo contenidos en una columna que, al centrifugar posteriormente el cassette, los hematíes aglutinados quedan atrapados y los hematíes no aglutinados se desplazan hasta la parte inferior de la columna. Los hematíes se separan de las proteínas séricas antes de la exposición al reactivo anti IgG-C3d poliespecífico. La densidad del reactivo permite que los hematíes atraviesen la columna, mientras que las proteínas neutralizantes del suero, menos densos, permanecen por encima de la interfase de esfera de vidrio y reactivo.

Reactivo

Consta de 6 columnas que contienen una solución tamponada con albúmina bovina y potenciadores macromoleculares, así como los conservantes azida sódica al 0,1 % (P/v) y EDTA 0,01 M.

Condiciones de conservación

Los cassettes pueden almacenarse en posición vertical de 2 °C a 25 °C.

10. Especificaciones de desempeño

El banco de sangre realizó dos ejercicios de verificación, uno inicialmente para verificar las especificaciones de desempeño del fabricante y otra verificación retrospectiva de las pruebas, evidenciando que se ajusta a los parámetros dados por el fabricante.

11. Muestras recomendadas

No requiere una preparación especial. Se puede usar suero o plasma con EDTA extraído en las últimas 72 h, libre de hemólisis. Si se produce un retraso en la realización de la prueba almacenar las muestras entre 2 °C y 8 °C.

12. Tubos utilizados para la pruebas

- Tubo seco: suero
- Tubo con EDTA: sangre total (centrifugada)

13. Reactivos requeridos

1. Solución salina isotónica
3. Solución diluyente de glóbulos rojos(RCD)

Procedimiento

1. Preparar una suspensión globular de la muestra del 3 % al 5 % realizada en el programa # 5 de la micropipeta Ortho BioVue System así: 190 µl de Solución diluyente de glóbulos rojos, más 10 µl de sangre total o glóbulos rojos.

1. Preparar una suspensión globular de la muestra (bolsa de glóbulo rojo del donante) al 0.8% así: adicionar 1 ml de diluyente a un tubo de ensayo, de este tomar con el programa #5 de la pipeta Ortho BioVue, 190 µl de Solución diluyente de glóbulos rojos, más 10 µl de sangre total o paquete globular.

2. Dispensar 50ul de la solución anterior con el programa #3, en un pozo del cassette para IgG poliespecifico. En este mismo pozo adicionar 40 ul de suero o plasma del paciente que va a recibir la transfusión de dichos glóbulos rojos.

3. Incubar 10 minutos en el termostato Ortho BioVue.

4. Centrifugar 5 minutos en la centrifuga Ortho BioVue

5. Realizar lectura.

Para el procesamiento en instrumento de medición de inmunohematología centrifugar la muestra de sangre total y programarla según el IT-BS-67.

Control

Es necesario realizar un análisis serológico para reconocer el deterioro del reactivo. Es recomendable analizar el reactivo cada día que se utilice con los controles positivos y negativos adecuados y de acuerdo a los métodos descritos en este prospecto. La función de la globulina antihumana es aglutinar los hematíes sensibilizados con anticuerpo (gammaglobulina) y/o componentes de complemento (betaglobulina). La globulina antihumana no debería aglutinar hematíes no sensibilizados.

Controles positivos: Se utiliza EL ORTHO - Confidence System. El cual esta compuesta por celulas 1 (RH: A B +) , celulas 2 (RH: 0+) y un antibody (Variedad de Anticuerpos)

14. Interferencias

- Se sabe que el uso de diversos fármacos y también ciertas enfermedades están asociadas a positivos en las pruebas directas de antiglobulina.
- Los materiales complementarios contaminados usados en los procedimientos descritos pueden interferir con los resultados de la prueba.

15. Valores críticos

Prueba cruzada incompatible.

16. Interpretación

compatible: Hematíes empacados en el fondo de la columna, se puede transfundir los glóbulos rojos del donante.

Incompatible: Hematíes por encima de la columna de las esferas de vidrio, no se deben transfundir los glóbulos rojos.

Nota: Almacenar la muestra del receptor con dos pilotos de la unidad de glóbulos rojos utilizada y los tubos utilizados para realizar la transfusión en el instrumento de medición en la gradilla de las transfusiones. Esta gradilla se almacena durante 8 días.

17. Precauciones de seguridad

- La sangre y los materiales en contacto con la sangre se manipularán como si fuesen potencialmente infecciosos. Se recomienda que la sangre y los materiales que entran en contacto con la sangre se manejen según las buenas prácticas de laboratorio establecidas1.
- Algunos componentes del cassette se pueden considerar residuos peligrosos o potencialmente infecciosos Desechar todos los materiales según las normas y regulaciones aplicables2
- Unas condiciones de almacenamiento inadecuadas afectarán negativamente al comportamiento del producto. ATENCIÓN: Adherida a la

bandeja de cassettes hay una etiqueta de comprobación de la temperatura. Si el color rojo que se puede ver en el círculo de la etiqueta coincide con o supera el patrón de color de la esquina de la etiqueta, los cassettes habrán estado expuestos a temperaturas superiores a 42 °C, lo cual puede afectar al rendimiento de los reactivos que contienen los cassettes. Se podrían producir resultados falsos-negativos si se utilizan estos cassettes. No utilizar los cassettes contenidos en la bandeja.

- No usar los reactivos después de su fecha de caducidad que figura en la etiqueta.
- La congelación de los cassettes o la evaporación del líquido por el calor puede interferir con el paso libre de los hematíes no aglutinados a través de la columna de esferas de vidrio.
- No usar los cassettes que aparezcan dañados (por ejemplo, con rotura del sello de la lámina de aluminio o roturas, grietas o burbujas de aire en la columna) o que muestren un contenido seco (p. ej., el nivel de líquido se encuentra en la parte alta de las esferas de vidrio, o incluso más abajo) o cambios de color (debido a la contaminación bacteriana, lo que puede provocar reacciones falsas).
- Se debe utilizar la centrifuga del sistema BioVue de Ortho para alcanzar los parámetros de centrifugación para este sistema. La correcta calibración de la centrifuga es esencial para conseguir los resultados exactos de la prueba.

18. Fuentes potenciales de variabilidad

- Anemia hemolítica autoinmune
- Anticuerpos irregulares
- Anticuerpos naturales

19. Importante

Los resultados que se imprimen de las pruebas de compatibilidad para la transfusión se deben conservar cinco años en archivo activo y 10 años en archivo pasivo. Por la capacidad de almacenamiento del servicio transfusional de la sede Tesoro se define conservar en archivo activo un año y catorce años en archivo pasivo.

20. Bibliografía

Landsteiner K. Über agglutinationserscheinungen normalen menschlichen blutes. Klin Wschr 1901;14:1132.

Moreschi C. Neue tatsachen uber die blutkorperchen agglutinationen. Zbl Bakt. 1908;46:49,456.

Coombs RRA, Mourant AE, Race RR. A new test for the detection of weak and 'incomplete' Rh agglutinins. Br J Exp Pathol 1945;26:255.

Levine P. Cross-matching technics, especially the Coombs test. Proc NY State Assn of Public Health Laboratories1955;35:9.

Dacie JV, Crookston JH, Christenson WN. Incomplete cold antibodies: role of complement in sensitization to antiglobulin serum by potentially haemolytic antibodies. Br J Haematol 1957;3:77-87.

Hill G, Pollack W, Levine P. A critical evaluation of a rapid 'broad spectrum' compatibility test. Proc Seventh Congress Int Soc Blood Trans, Rome, 1958.

Pollack W, Hager HJ, Hollenbeck LL Jr. The specificity of anti-human gamma globulin reagents. Transfusion 1962;2:17-30.

Stroup M, MacIroy M. Evaluation of the albumin antiglobulin technic in antibody detection. Transfusion 1965;5:184-191.

Blood group antigens & antibodies as applied to hemolytic disease of the newborn. Raritan, NJ: Ortho Diagnostic Systems, 1968.

Austen KF et al. Nomenclature of complement. Immunochemistry. 1970;7:137.

Issitt PD, Smith TR. Evaluation of antiglobulin reagents. In: A seminar on performance evaluation. Washington, DC: American Association of Blood Banks, 1976:61,65-6.

Garratty G. Laboratory investigation of drug-induced immune hemolytic anemia and/or positive direct antiglobulin tests. Washington, DC: American Association of Blood Banks, 1980.

Howard JE, Winn LC, Grumet FC, Garratty G, Petz LD. Clinical significance of the anti-complement component of antiglobulin antisera. Transfusion. 1982;22:269-272.

Technical Manual. 14th ed. Arlington, VA: American Association of Blood Banks, 2003. Kosmin M, Treacy M. Clinical significance of the direct antiglobulin test. Raritan, NJ: Ortho Diagnostic Systems, 1978.

Giles C, Engelfriet CP. Working party on the standardization of antiglobulin reagents of the expert panel of serology. Vox Sang. 1980;38:178-9.

Moore JA, Chaplin H Jr. Anti-C3d antiglobulin reagents. II. Preparation of an antiglobulin serum monospecific for C3d. Transfusion 1974;14:416-424.

Köhler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature. 1975;256:495-497.

Si este documento se encuentra impreso no se garantiza su vigencia, por lo tanto es copia NO CONTROLADA, la versión actual se encuentra en Isolución

VERSION	FECHA	RAZON DE LA ACTUALIZACION
		Se actualiza el procedimiento de PAD y PAI.
		Se adiciona temperatura de almacenamiento de la muestra si no se va a procesar

03	28/Sep/2011	inmediatamente. Se adiciona nota de muestras obtenidas de cordón umbilical. Se adiciona alcance.
03	08/Ene/2014	Se revisa y no es necesario modificarlo
04	28/Nov/2014	Se actualiza según instrumento de medición.
04	02/Feb/2016	Se revisa y no se modifica.
05	04/May/2017	Se actualiza objetivo y alcance. Se adiciona: especificaciones de desempeño Interferencias Valores críticos Fuentes potenciales de variabilidad Bibliografía
05	18/Mar/2019	Se adiciona en el título Ortho vision pero no se modifica la versión porque no se modifica el contenido del instructivo.
05	27/Ene/2020	Se revisa y no se modifica.
06	07/Ene/2021	Se retira del título auto-Vue, Se retiran nombres de equipos y se reemplaza por instrumentos de medición.
06	10/Ene/2022	Se revisa y no se modifica.
06	12/Ene/2023	Se revisa y no se modifica.
07	06/Sep/2023	Se adiciona enfoque diferencial, talento humano, equipo biomédico, medicamentos, dispositivos médicos e insumos.
07	23/Ene/2025	Se revisa y no se modifica.



ELABORO	REVISO	APROBO
Nombre: Gloria Patricia Tirado Cargo: Director(a) de Calidad Fecha: 05/Sep/2023	Nombre: Yulime Andrea Monsalve Martinez Cargo: Bacteriólogo(a) de Pruebas Biológicas Fecha: 05/Sep/2023 Nombre: Sandra Milena Arango Vanegas Cargo: Coordinación Banco de sangre Fecha: 05/Sep/2023	Nombre: Carlos Gonzalo Robledo Restrepo Cargo: Director General Fecha: 06/Sep/2023