

DISTRIBUCIÓN:	
DEPARTAMENTO	RESPONSABLE
Dirección	Jefe de la Unidad de Calidad
Hematología	Jefe de la Unidad de Hematología
Enfermería	Coordinadora de Enfermería

SUMARIO DE MODIFICACIONES		
REVISIÓN	FECHA	DESCRIPCIÓN
A	29/01/07	Primera edición

PREPARADO	REVISADO Y APROBADO
Nombre: Marga Alcover Cargo: Coordinadora de Enfermería Fecha: 29/01/07	Nombre: Joan Bargay Cargo: Jefe de Unidad de Hematología Fecha: 29/01/07
La documentación del Sistema de Gestión de la Calidad se encuentra en la Intranet de Hospital Son Llàtzer. Existe una única copia papel autorizada y controlada en poder del Coordinador de Calidad, por lo que cualquier otro documento papel se considerará copia no controlada.	

1. Técnica en gel: (Método en Liss/Coombs y método enzimático)

El procedimiento es similar al del "Escrutinio de anticuerpos" pero utilizando paneles eritrocitarios de 11 células.

MATERIAL: pipeta automática de 50, 25 y 10 lambdas (pipeta DiaMed)
Incubador para tarjetas DiaMed
Centrífuga para tarjetas DiaMed

MUESTRA: suero, plasma o eluido
Hematíes del paciente al 0,8% en Diluyente 1 y/o Diluyente 2
(si hay que incluir autocontrol) (ver forma de preparación en fichas de "Fenotipos sanguíneos")

REACTIVOS: tarjetas DiaMed con antiglobulina ("Liss/Coombs") (color verde)
Tarjetas DiaMed neutras ("NaCl/test enzimático/aglutininas frías") (color naranja)
Diluyente DiaMed 1 (bromelina)
Diluyente DiaMed 2 (liss)
Panel eritrocitario de 11 células al 0,8 % sin tratar enzimáticamente.
Panel eritrocitario de 11 células al 0,8% papainizadas.



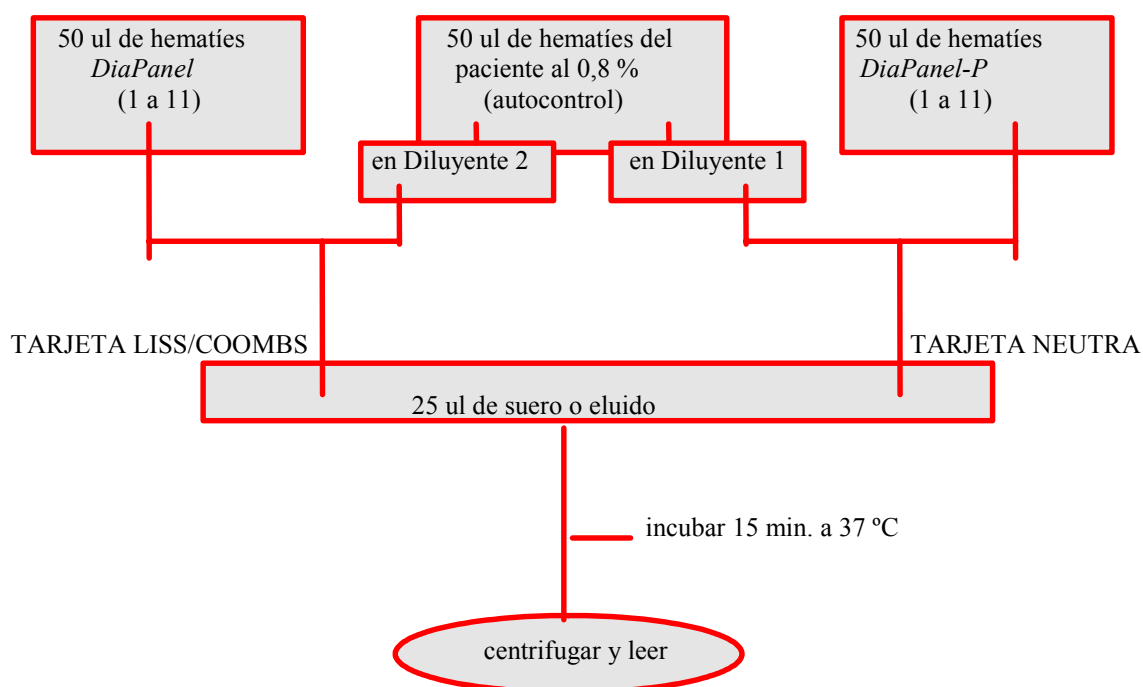
Tarjeta DiaMed con antiglobulina ("Liss/Coombs")



Tarjeta DiaMed neutra (NaCl/test enzimático/aglutininas frías)

PROCEDIMIENTO

1. Rotular las tarjetas con los datos del paciente, numerando los pocillos del 1 al 11. Si se incluye autocontrol anotar en el último las letras "ac".
 - Para identificación en Liss/Coombs:
Tarjetas *Liss/Coombs* (verde)
 - Para identificación en test enzimático:
Tarjetas *NaCl/test enzimático/aglutininas frías* (naranja)Destapar los pocillos.
2. Depositar 50 lambdas (1 gota) de cada vial de hematíes del panel eritrocitario *DiaPanel* o *DiaPanel-P* en el pocillo correspondiente de la tarjeta (del 1 al 11).
3. Si se incluye autocontrol añadir 50 lambdas (1 gota) de los hematíes del propio paciente en suspensión al 0,8% en Diluyente 1 (para test enzimático) o en Diluyente 2 (para test en Liss/Coombs).
4. Añadir a cada pocillo **25 lambdas** del suero , plasma o eluido a investigar.
5. Incubar durante 15 minutos a 37 °C en la incubadora DiaMed.
6. Centrifugar durante 10 minutos.
7. Leer los resultados y anotarlos en una de las *Hoja de Fenotipos* que acompañan al panel.





ID-DiaPanel

Panel de identificación de 11 células (ID-DiaPanel)

Panel papainizado de identificación de 11 células
ID-DiaPanel-p

PREPARACIÓN AUTOCONTROL

Preparar la suspensión de hematíes al 0,8%

ID-Diluyente 2	0'5 ml
+	
Sangre total	10 µl
o bien	
Sedimento	5 µl

	P. COOMBS INDIRECTO a 22 °C		P. COOMBS INDIRECTO a 37 °C		P. COOMBS INDIRECTO ENZIMÁTICO	
Resuspender los hematíes	1-6 / 7-11	12 Autocontrol	1-6 / 7-11	12 Autocontrol	Células papainizadas 1p-6p / 7p-11p	12 Autocontrol
Identificar correctamente los microtubos						
Añadir los hematíes	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl	50 µl
	+	+	+	+	+	+
Añadir suero o plasma	25 µl	25 µl	25 µl	25 µl	25 µl	25 µl
Añadir ID-Diluyente 1 ó ID-papaina						+ 25 µl
Incubar 15 minutos	a temperatura ambiente (a 22°C)		a 37°C		a 37°C	
Centrifugar 10 minutos						
Leer						

INTERPRETACIÓN

(Ver ficha de *Lectura de resultados en tarjetas de gel DiaMed*)

1. Prestar atención a la posible presencia de hemólisis en el sobrenadante
2. Indicar en cruces la intensidad de cada aglutinación.
3. Anotar en la Hoja de Fenotipos los datos del paciente, grupo sanguíneo y fecha del estudio, así como el resultado de la interpretación.

Con los resultados obtenidos, transcritos a la correspondiente *Hoja de Fenotipos*, se procede a deducir la especificidad del anticuerpo (o anticuerpos) presentes en la muestra estudiada.

Comprobar, antes de comenzar la interpretación, que las *Hojas de Fenotipos* corresponden a los paneles utilizados (numeros de lote y fechas de caducidad).

Si se produce reacción positiva en el autocontrol es que se trata de un **autoanticuerpo (isiempre que no haya recibido sangre recientemente!)** Si el autocontrol es negativo se trata de un **aloanticuerpo**. No es infrecuente que coexistan auto y aloanticuerpos.

Algunas consideraciones que pueden ayudar a la interpretación:

1.- Para la deducción basarse tanto en los resultados obtenidos en la prueba de *Investigación* como en el *Escrutinio* realizado anteriormente. Dispondremos así de 14 hematiés de fenotipo distinto para el Liss/Coombs y de 11 para el test enzimático.

2.- Los anticuerpos frente a antígenos de los sistemas **MNS y Duffy no se detectan en el test enzimático**, ya que al tratarse de antígenos de naturaleza proteica son destruidos por los enzimas.

3.- Con la excepción expuesta en el punto 2, las reacciones suelen ser mucho más intensas en los hematiés papainizados que en los no tratados (Liss/Coombs). Ello es especialmente manifiesto en el caso de los anticuerpos del sistema Rh. **El 68 % de los anticuerpos se detectan solo en test enzimático.**

4. Algunos anticuerpos tienen un marcado "**efecto de dosis**" (reaccionan solo con los hematiés homocigotos en el antígeno correspondiente, o lo hacen con mucha más intensidad que con los hematiés heterocigotos). Los anticuerpos con "efecto de dosis" más acusado son los dirigidos frente a antígenos de los sistemas Kidd y Duffy, así como los anti-M.

5.- Es aconsejable comenzar por descartar aquellos antígenos presentes de forma homocigota en los hematiés que han dado reacción negativa.

6.- Nos puede ayudar para la identificación conocer el fenotipo de los hematiés del paciente (ver ficha correspondiente), ya que los antígenos correspondientes a los aloanticuerpos detectados en el suero deben estar ausentes en los mismos. En el caso de autoanticuerpos o estudio de un eluido el antígeno por el contrario deben estar presentes.

Cuando se ha identificado un aloanticuerpo debe procederse a la determinación en los eritrocitos del paciente del antígeno específico para comprobar su ausencia.

Tener en cuenta que si el paciente ha recibido transfusiones recientemente el estudio del fenotipo puede darnos resultados erróneos.

7.- Si el paciente no tiene antecedentes transfusionales ni de gestación lo más probable es que se trate de un anticuerpo "natural". Los **anticuerpos naturales** más frecuentes son los anti-E, anti-Lewis, anti-Cw y anti-M.

8.- Cuando se detecta un anticuerpo de especificidad anti-D en mujeres fértiles, asegurarse de que no se trate de un anticuerpo "pasivo" por haber recibido la paciente recientemente gammaglobulina anti-D (en test enzimático puede detectarse hasta transcurridos seis meses)

9.- Los anticuerpos anti-D suelen asociarse muy frecuentemente a anticuerpos anti-C.

Puede tratarse de dos anticuerpos distintos o de un anticuerpo anti-G (antígeno que comparte estructuras del D y del C). Para distinguirlos debe recurrirse a técnicas de absorción-elución (consultar ficha correspondiente). Es muy rara la presencia de un anti-C aislado.

También son frecuentes las asociaciones de anti-C con anti-e y de anti E con anti-c.

10.- Cuando se sospecha la presencia de varios anticuerpos y no se llegan a identificar puede recurrirse a técnicas de absorción-elución (ver ficha correspondiente).

11.- En test enzimático pueden detectarse anticuerpos de especificidad HLA que reaccionan con la mayoría de los hematíes del panel.

OBSERVACIONES Y SUGERENCIAS

1. Todas las recomendaciones expuestas en la ficha de *Escrutinio de Anticuerpos Irregulares* son también de aplicación para la identificación.

2. Antes de comenzar a depositar los hematíes reactivos asegurarse de que los viales están colocados en el orden correspondiente.

3. Comprobar la fecha de caducidad de los paneles

2 Clasificación por orden de frecuencia de presentación (con un * se señalan los mas peligrosos)

Anticuerpos más frecuentes								
E	D *	K *	C	C^W	Le^a	c *	Le^b	JK^{a *}

Anticuerpos poco frecuentes				
e	M *	Kp^a	S	Fy^a

Anticuerpos muy raros						
Lu^a	N	s	JK^b	Fy^b	G	A₁

3. Frecuencia en la raza blanca de los antígenos más importantes

Rh		Kell		Duffy		Kidd		Lewis		P		MNS		Lutheran	
D	85 %	K	9%	Fy ^a	66 %	Jk ^a	77 %	Le ^a	22 %	P ₁	79 %	M	78 %	Lu ^a	8%
C	70 %	Kp ^a	2%	Fy ^b	83 %	Jk ^b	72 %	Le ^b	72 %			N	72 %		
E	30 %											S	55 %		
c	80 %											s	89 %		
e	98 %														
C ^w	1%														