

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
<p>Nombre: Marga Alcover Cargo: Coordinadora de Enfermería Fecha: 29/01/07</p>	<p>Nombre: Joan Bargay Cargo: Jefe de Unidad de Hematología Fecha: 29/01/07</p>
<p>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.</p>	

DEFINICIÓN

Se denomina D^u al mismo antígeno D cuando se expresa de forma tan débil que únicamente es detectable por la prueba de la antiglobulina indirecta.

Se trata de una cuestión simplemente cuantitativa. El número de lugares antigénicos D en la superficie de los hematíes D^u es tan pequeño que no permite la aglutinación de los mismos al enfrentarlos a sueros anti-D, por lo que debe recurrirse a métodos indirectos para detectarlos.

Las personas D^u positivas deben considerarse Rh (D) positivas a todos los efectos.

Todas las sangres que den resultado negativo en la determinación del antígeno D por cualquier técnica directa (placa, tubo, microplaca o gel) deben ser confirmadas mediante una prueba de antiglobulina indirecta (investigación del D^u).

En caso de receptores de transfusión, cuando la urgencia no permita entretenerse en la investigación del D^u, puede prescindirse de esta confirmación, transfundiendo sangre Rh-negativa. De todas formas se recomienda efectuarla siempre, aunque sea posteriormente.

La incidencia de este tipo del Rh débil (D^u) en la raza blanca es del 0.6 % y en la raza negra del 3.6 %.

1 Determinación D^u por técnica en tubo:

MATERIAL: tubos de vidrio de 90 x 12 (tubos de hemólisis)
Pipetas Pasteur
Centrífuga de inmunohematología

MUESTRA: sangre recogida en EDTA.
Hematíes al 5% en solución salina isotónica (2-3 gotas de sangre o 1 gota de sedimento de hematíes por cada mL de solución salina).

REACTIVOS: anti-D monoclonal (debe contener anticuerpos IgG)
Solución control: diluyente del anti D (comercial) o albúmina al 22-30 %.
Antiglobulina humana (debe contener anti IgG + anti C3d) (coloreada en verde).
Hematíes control Coombs.

PROCEDIMIENTO

Se inicia como una prueba de determinación en tubo del antígeno D, continuando después con la prueba de la antiglobulina indirecta en caso de resultado inicialmente negativo.

1. Rotular un tubo de hemólisis con "D" y otro con "C" (de Control). Identificar con el nombre del paciente.
2. Colocar una gota de anti-D monoclonal en el tubo "D"
Colocar una gota del control o la albúmina en el tubo "C"
3. Añadir a cada tubo una gota de la suspensión de hematíes al 5%. Mezclar.
4. Incubar 15 minutos a 37°C.
5. Centrifugar 1 minuto.
6. Resuspender suavemente el botón celular y observar la presencia o no de aglutinación.
Si hay aglutinación en el tubo "D" y no en el "C" la muestra debe considerarse Rh positiva y no hace falta continuar.
7. Si no hay aglutinación, lavar tres veces con abundante solución salina isotónica , centrifugando cada vez 2 minutos.
Decantar totalmente la solución salina del último lavado.
8. Añadir a cada tubo 2 gotas de antiglobulina
9. Centrifugar 1 minuto.
10. Resuspender suavemente el botón celular y observar la posible presencia de aglutinación.
11. Si la reacción es negativa añadir al tubo "DU" una gota de hematíes control Coombs, recentrifugar y leer. La lectura debe ser positiva.

2 Técnica en gel:

MATERIAL: tubo de hemólisis (12 x 75 mm)
Pipeta automática de 50 y 10 lambdas.
Incubador para tarjetas de gel.
Centrífuga para tarjetas de gel.

MUESTRA: sangre recogida en EDTA
(Suspensión de hematíes al 0,8% en solución liss)

REACTIVOS: tarjetas DiaMed ID (Coombs Anti-Ig G)
Diluyente 2 DiaMed (liss modificado)
Anti-D monoclonal (debe contener anticuerpos IgG)



PROCEDIMIENTO

1. En un tubo de hemólisis, previamente rotulado con el nombre del paciente, depositar **0,5 ml del DILUYENTE 2** (liss modificado)
2. Añadir al tubo **10 lambdas** de sangre previamente homogenizada. Mezclar
3. Destapar dos pocillos de la tarjeta Dia Med ID (Coombs Anti-Ig G). Rotular uno con la letra "D" y el otro con la letra "C" (de Control). Anotar el nombre del paciente.
4. Añadir a cada uno de los pocillos 50 lambdas (1 gota) de la suspensión de hematíes.
5. Añadir al pocillo "D" 50 lambdas del reactivo anti-D (apoyar la punta de la pipeta en la pared lateral del pocillo).
6. Incubar durante 15 minutos a 37°C en el incubador DiaMed.
7. Centrifugar durante 10 minutos
8. Leer los resultados y anotarlos en la *Hoja de Trabajo*.
(ver ficha de lectura de resultados en tarjetas DiaMed)

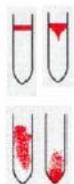
PROCEDIMIENTO

Preparar la suspensión de hematíes al 0,8 %	
ID-Diluyente 2	0,5 ml
Sangre total	10 µl
o bien	
Sedimento	5 µl
Mezclar bien	
Escribir la identificación en las tarjetas	
Resuspender y añadir en los microtubos	
Suspensión de hematíes	50 µl
+	
"ID-Anti-D" para D débil	50 µl
Incubar durante 15 minutos a 37°C	
Centrifugar 10 minutos	
Leer	

INTERPRETACIÓN

1. Una aglutinación positiva en el microtubo "DU" y negativa en el "C" indica que se trata de una sangre D^u, y por lo tanto Rh-positiva.
2. Una aglutinación positiva en ambos microtubos invalida la prueba. Los hematíes estaban sensibilizados previamente por auto o aloanticuerpos (Coombs directo positivo).

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS



Rh (D) POSITIVO en PAI

Presencia de una reacción debilitada para el antígeno Rh(D) detectable con técnica de Antiglobulina Indirecta



Rh (D) NEGATIVO en PAI

Se confirma una reacción negativa para el antígeno Rh(D) en técnica de Antiglobulina Indirecta.