

BIOTRON FASTCHEM SICKLE CELL TEST KIT DE REACTIVO.

Uso destinado:

Determinación cualitativa de hemoglobina S (HbS) en la sangre utilizando un método de solubilidad de fosfato.

Historia del método:

En el 1910 Herrick (1) observó como se enfermaban los eritrocitos de los pacientes con anemia sickle cell. Desde ese tiempo más de 250 variantes estructurales de la molécula de hemoglobina se han descubierto (2,3). En los Estados Unidos, hemoglobina S (HbS) es la variante de hemoglobina más común; es encontrada en aproximadamente 8-11% de los negros americanos (4). Es esencialmente peculiar para los negros, alcanzando una frecuencia de hasta 59% en varias regiones de África. También es encontrada en localizadas áreas de países que hacen frontera con el mar mediterráneo, por ej. Italia, Grecia, Turquía y Arabia.

En 1973, Itano (5) reportó una solubilidad pobre de deoxyhemoglobina S concentrada en fosfato buffer. Varias modificaciones del procedimiento original han sido reportados (6-8). Los exámenes de solubilidad han sido adaptados a un cribado automatizado. El procedimiento de Biotron es la modificación de un procedimiento Nalbandian (6) basada en la solubilidad del fosfato.

Principio de Método:

Los eritrocitos son lisiados por saponina y la hemoglobina liberada es reducida por ditionita en un buffer de fosfato. El HbS reducido está caracterizado por su solubilidad baja y por su formación de cristales nemáticos líquidos (tactoids) para que en la presencia de HbS o no-S hemoglobinas enfermas del sistema se ponen turbias. Con la adición de la Urea, una hemoglobina no-S enferma es indicada. En otros casos, la confirmación electroforética es requerida para identificación conclusiva.

REACTIVOS CONJUNTOS

1. **Buffer Sick Cell:** (0.97 M fosfato de potasio monobásico, 1.33 M fosfato de potasio dibásico con sodio azida como el preservativo).

PRECAUCION – Sodio Azide – Explosivo de laboratorio y tóxico.

2. **Reactivo estromatolítico:** (una medida de sodio hidrosulfito y saponina)

PRECAUCION – Saponina – Agente Hemolítico fuerte.

Almacenamiento de Reactivos:

Los kits recibidos pueden ser almacenados a 2-8 °C o en un refrigerador. Manténgalo tapado fuertemente para evitar la evaporación del buffer y proteger el polvo de la humedad.

Indicadores de daños del reactivo:

1. Apariencia Física
 - a. Apariencia turbia en el reactivo de sickle cell, que no se disolvió por completo en la mezcla, puede indicar el daño del reactivo.
 - b. SI EL SODIO HYROSULFATO se ha puesto húmedo y aterronado después de usado, no debería ser usado.
2. Ensayos de Control.

Fallo de obtener un resultado preciso en el ensayo de control de materiales que pueden indicar el daño del reactivo.
3. Biotron Diagnostcs no puede garantizar la estabilidad de los reactivos que han sido
 - a. Transferidos de su contenedor original
 - b. Almacenados incorrectamente
 - c. Contaminados durante el uso.

Colección de espécimen:

Recolectar toda la sangre en un vial que contenga un anticoagulante específico (soluciones heparina, EDTA, oxalato, ACD, CPD, CPDA-1 y CPD2) y mezclar. Las muestras de sangre que han sido mantenidas por más de 1-2 semanas a 4-5 C son satisfactorias. No es requerida una restricción preliminar de comidas o fluidos.

Preparación del reactivo:

1. Agregar todos los contenidos del polvo sickle cell a la botella del buffer del sickle cell.
2. Mezclar bien por algunos 2 minutos para asegurar una reconstitución completa
3. El reactivo reconstituido debe de ser almacenado a 2-8 C y mantener bien cerrado. El reactivo que funcione bien estará estable por 45 días bajo esas condiciones. Dejando un reactivo afuera a una temperatura de habitación F por un largo periodo de tiempo hará que la vida del mismo dure menos.

Procedimiento:

1. Añadir 2.0 ml de sickle cell funcional a los tubos pre marcados llamados desconocidos, positivo y negativo. **Inmediatamente, devuelva el buffer del sickle cell funcional al refrigerador.**
2. Añadir 0.02 de muestra o control y mezclar por inversión.
3. Poner en el estante de sickle cell de 5-10 minutos
4. Lea el test agarrando el tubo aproximadamente 3 cm frente a la línea de escala. Si la solución es clara y las líneas son visibles, el test es negativo. Si la solución es turbia y las líneas no son visibles, Hbs u otra hemoglobina no pegadiza está presente. En cualquier caso, una confirmación electroforética es requerida para una identificación conclusiva.

Limitaciones del procedimiento:

Anemia severa causara resultados negativos y falsos, por eso, si la concentración de la hemoglobina es de 7g/dl o menos, la prueba debe ser centrifugada y 0.10 ml o red cell pellet (RCP) deberían ser utilizadas. La sangre de los pacientes con policitemia, mieloma múltiple, ciroglobulinemia y otra disglobulinemia causa falso positivo, lave las células rojas con banco de sangre salino y utilice 0.10 ml RCP, pruebas de pacientes con 25% HbF presente pueden causar falso negativos. En todo caso donde las anormalidades son indicadas o sospechadas, una confirmación electroforética es recomendada.

Indicadores del deterioro de reactivos:

1. Falla al obtener resultados exactos en el ensayo de control material
2. Turbidity o cristales que no estuvieron listos para ser disueltos en la mezcla.
3. Temperatura de habitación prolongada del reactivo funcional (24 horas o mas)
4. No utilice polvo sickle cell que se haya dañado o mojado.

****NOTA:** ESTA ES UNA TRADUCCION NO OFICIAL. PARA OTRAS CONSULTAS FAVOR CONFIRMAR CON LA TECNICA ORIGINAL EN INGLES O CONTACTAR UN REPRESENTANTE DE VENTAS.

DISTRIBUIDO POR:

LAMBDA DIAGNOSTICOS, SRL
809-616-2279/STGO. 809-724-5289