

COMPARACION DE TECNICAS INMUNOHEMATOLOGICAS

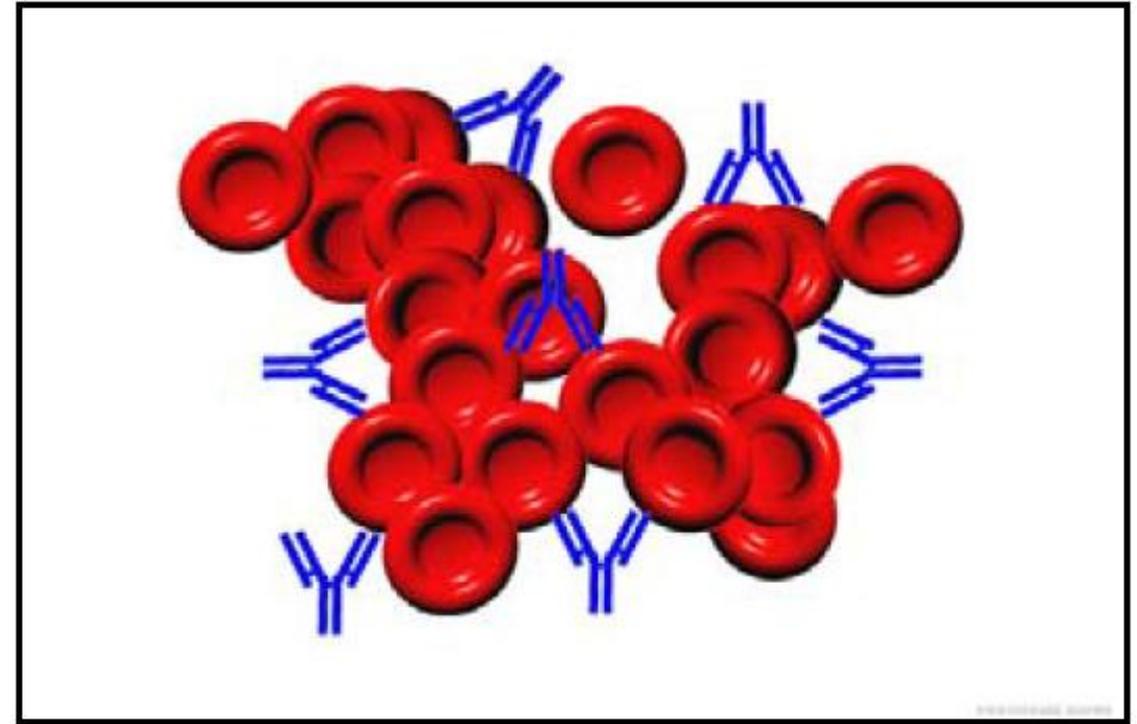
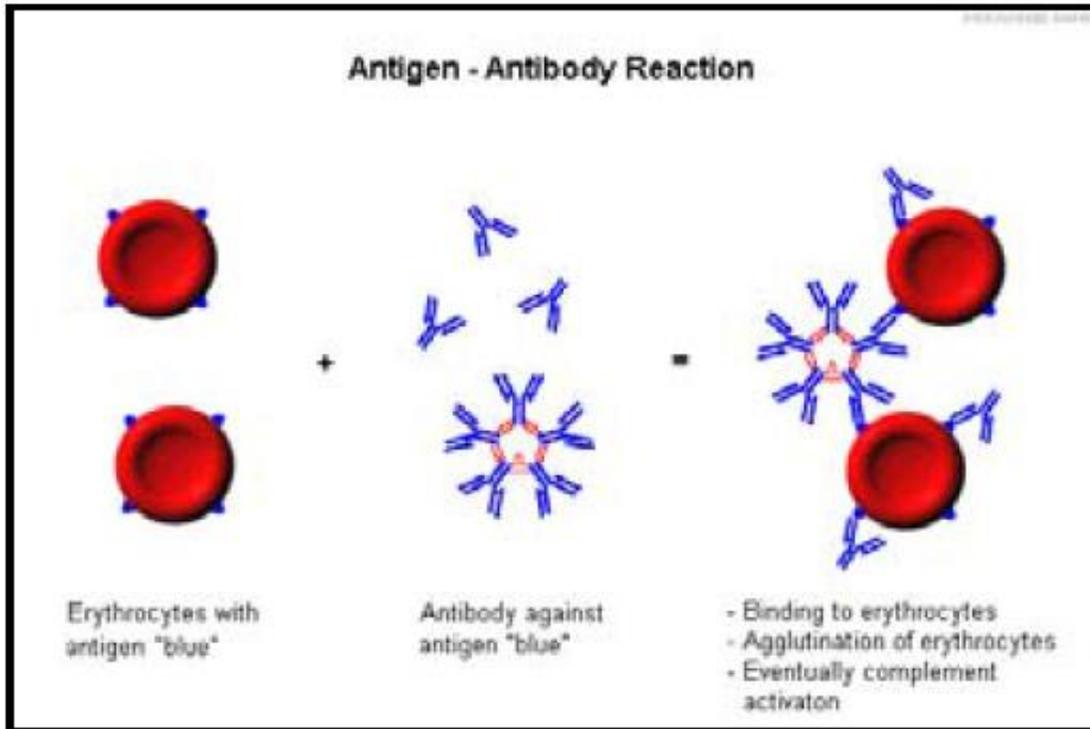
ALEXANDER PAJARES



Métodos disponibles en IH

Porta	✓
Tubo	✓
Columna (gel/CAT)	✓
Eritrocitos Magnetizados	✓
Biotest Solidscreen	✓
Capture (Fase Sólida)	✓

BASADAS EN LA REACCION ANTIGENO-ANTICUERPO



HEMAGLUTINACION:

- TUBO
- MICROPLACA
- CAT
- EM

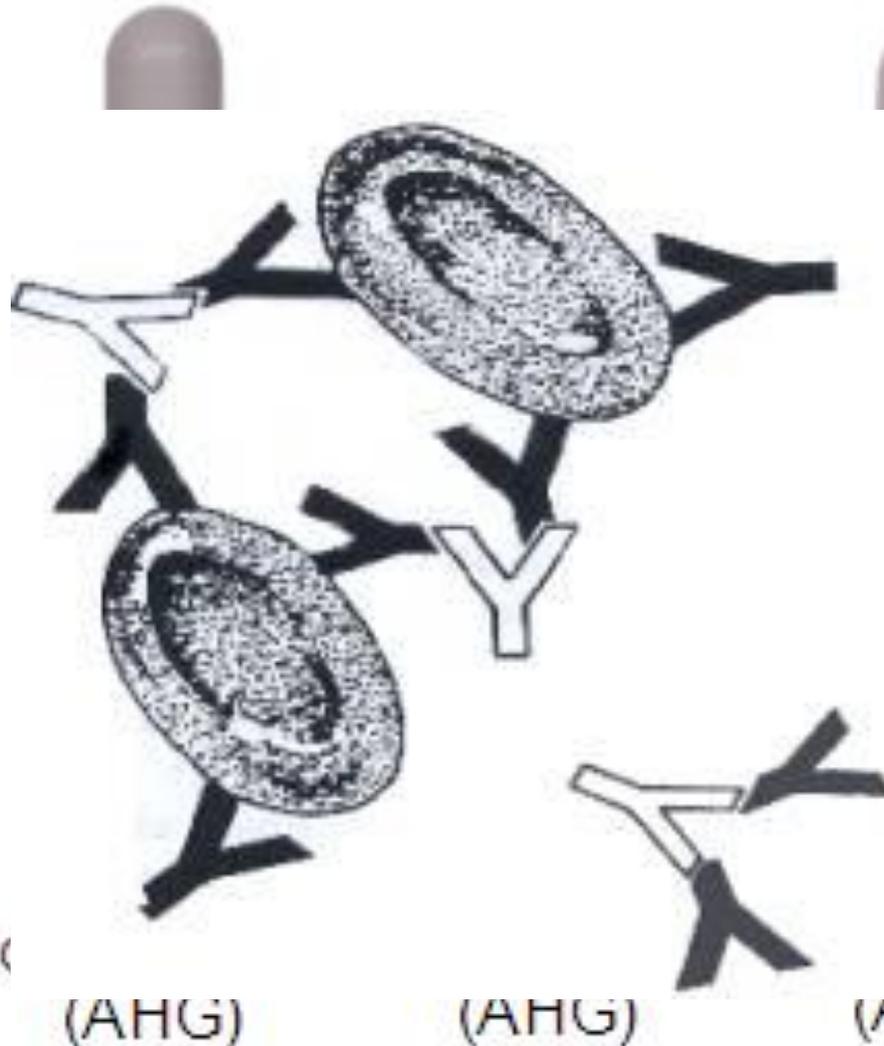
Robin Coombs

1945



Robert Royston Amos

Direct Coombs test / Direct antiglobulin test



The diagram illustrates the Direct Coombs test mechanism. It shows three red blood cells (RBCs) with antigens on their surfaces. Human anti-RBC antibodies (IgG) are bound to these antigens. A Coombs reagent (anti-human IgG antibody) is then added, which binds to the human antibodies, causing the RBCs to agglutinate. The diagram is labeled (AHG) at the bottom.

Legend

- Antigens on the red blood cell's surface
- Human anti-RBC antibody
- Antihuman antibody (Coombs reagent)

**igG, -C3d
na-clone[®]**

Agglutination of red blood cells occurs, because human Ig's are attached to blood cells.

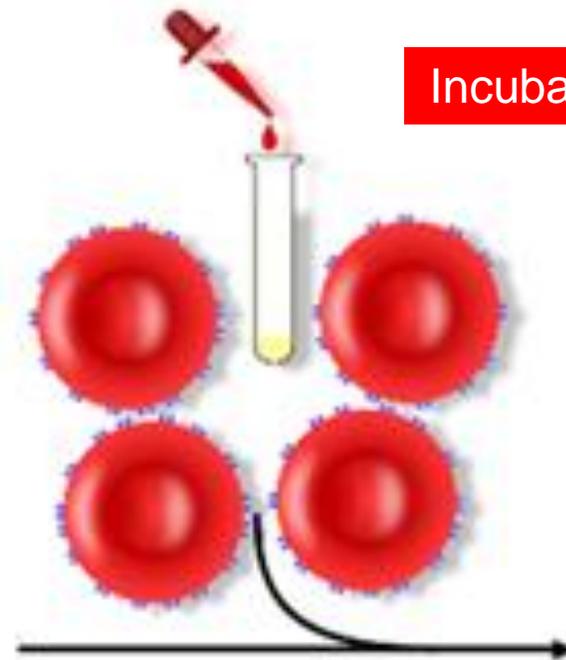
© Arta Rad - 2006

Test de Antiglobulina Indirecta (TAI)

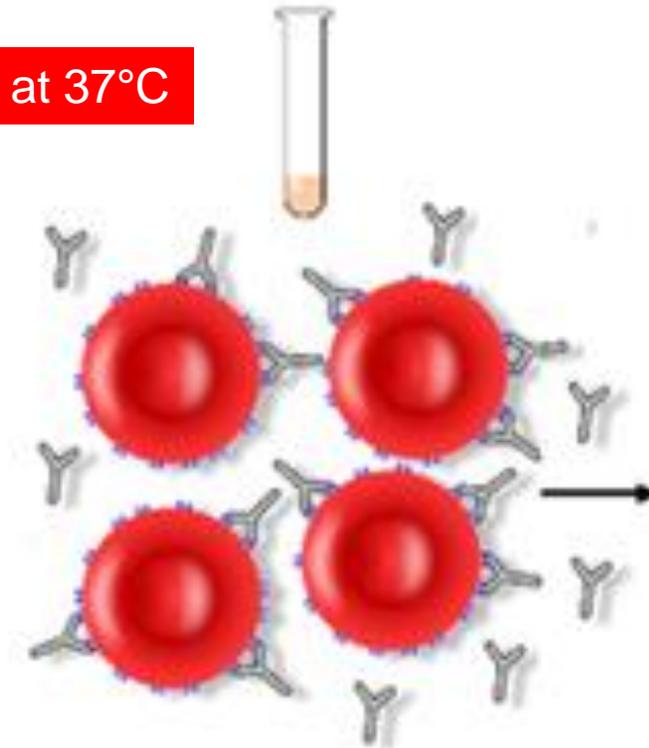
Plasma del Paciente



Puede haber presencia o ausencia de aloanticuerpos

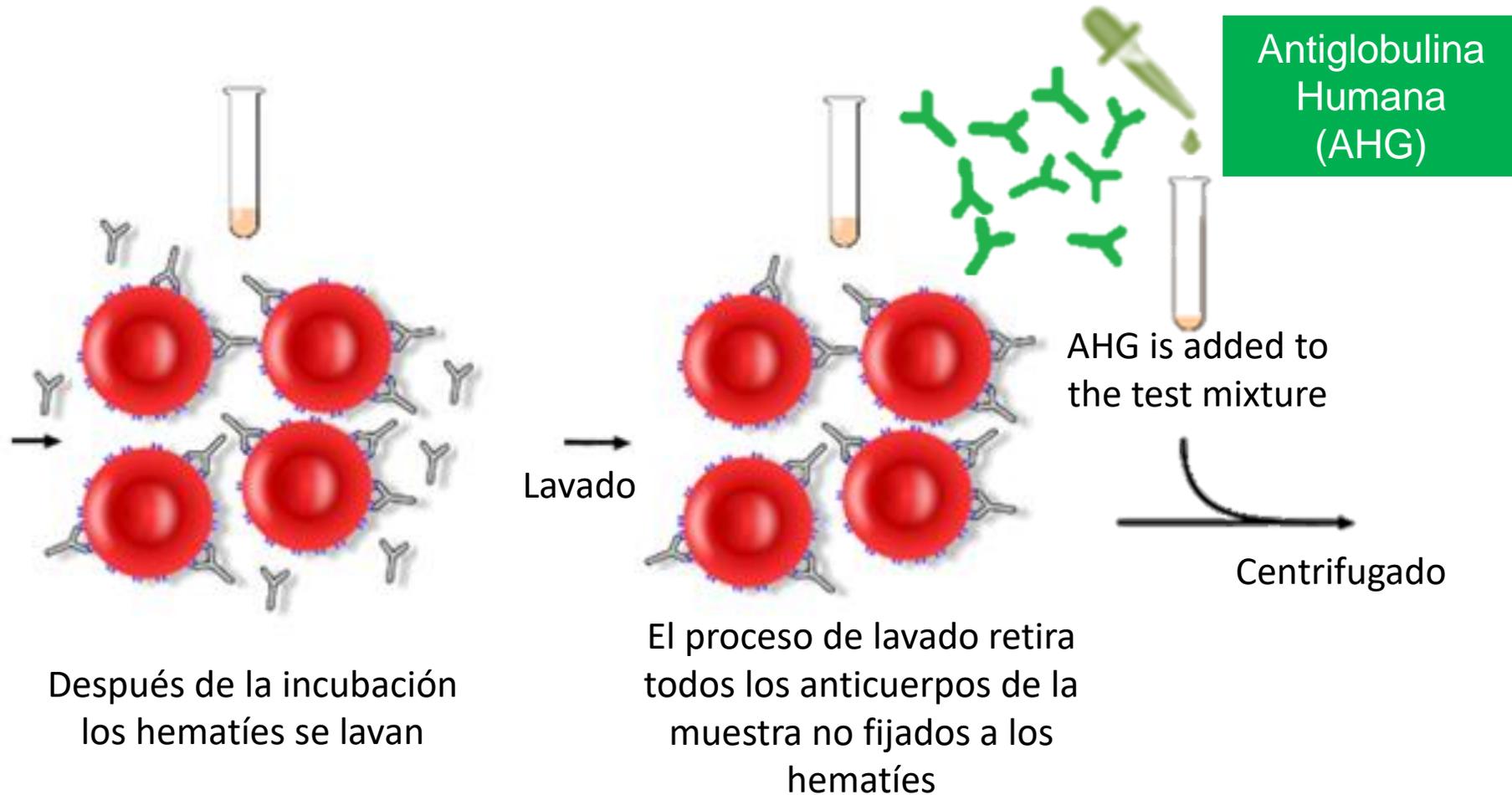


El reactivo eritrocitario se añade al plasma junto con un potenciador (LISS/PeG)

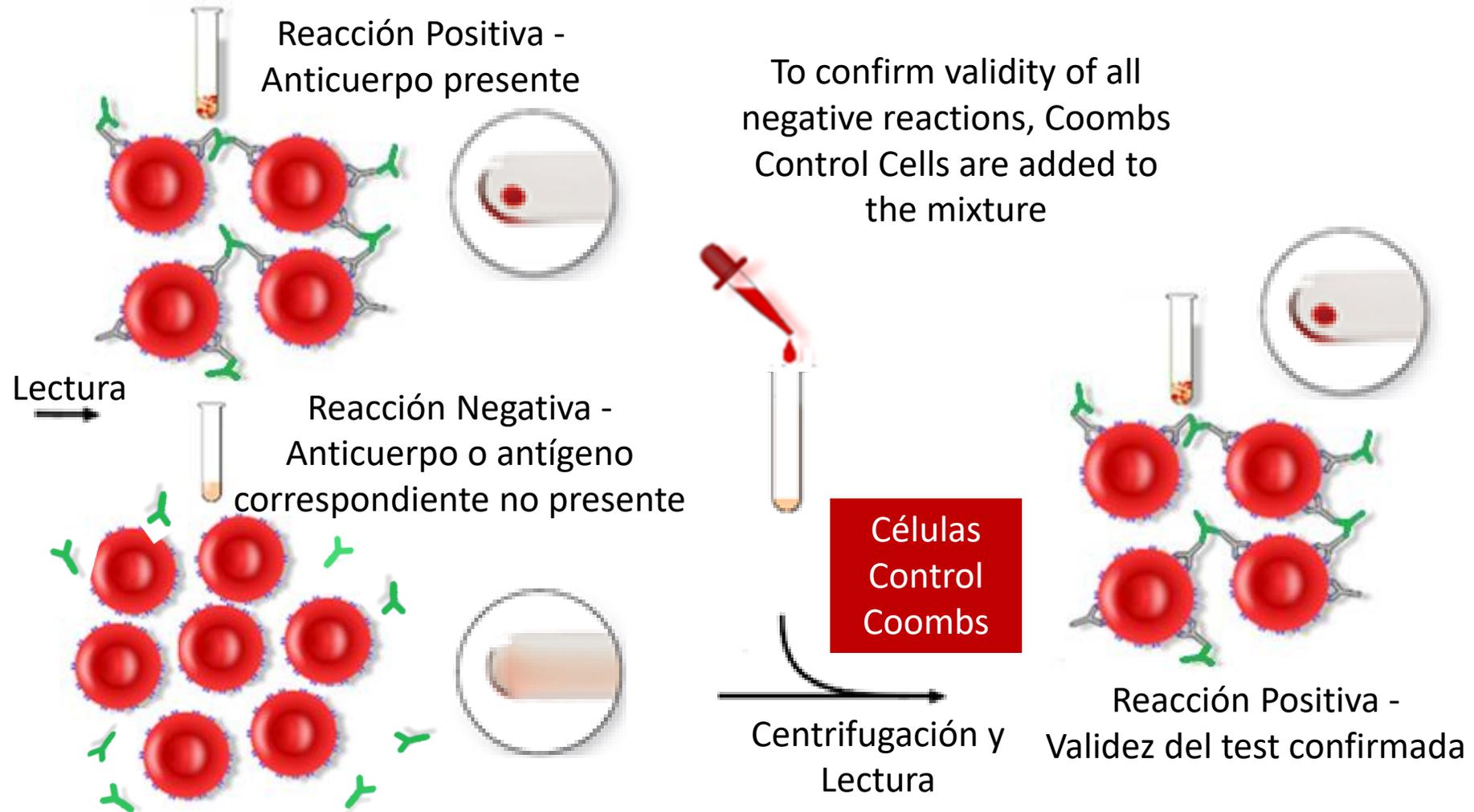


Los anticuerpos formarán complejos con el antígeno correspondiente si está presente en los hematíes

Test de Antiglobulina Indirecta (TAI)



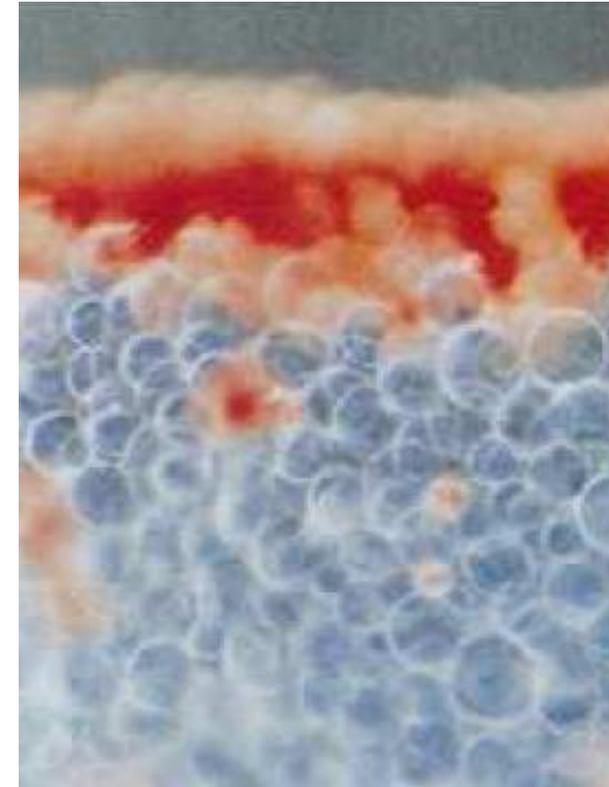
Test de Antiglobulina Indirecta (TAI)



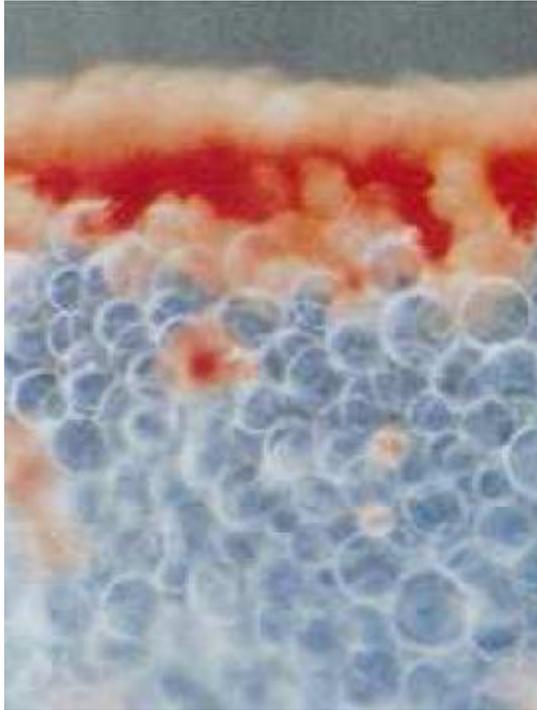
Principios del CAT/GEL

Los hematíes test y el plasma o suero del paciente se dispensan en una cámara situada encima de la columna.

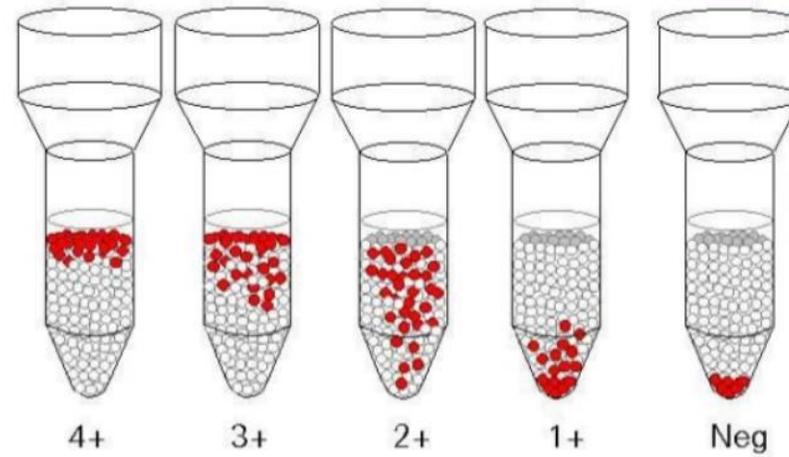
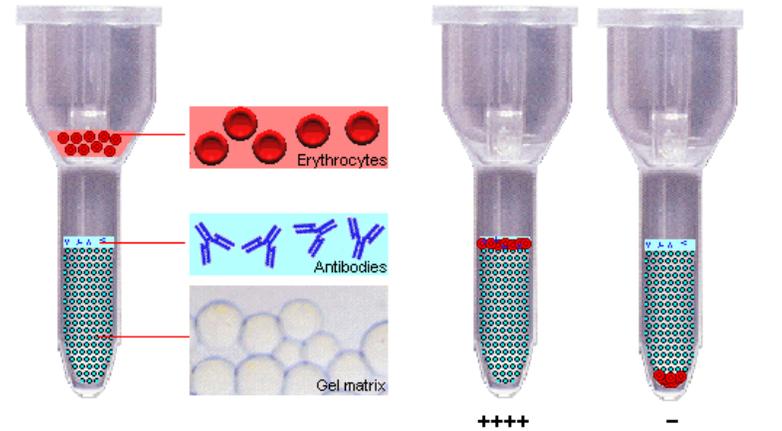
Después de una centrifugación, los hematíes son forzados a atravesar el la columna de gel/microesferas donde las aglutinaciones quedarán atrapadas, mientras que los hematíes no aglutinados viajarán hasta el fondo de la columna, formando un botón.



Test CAT/Gel

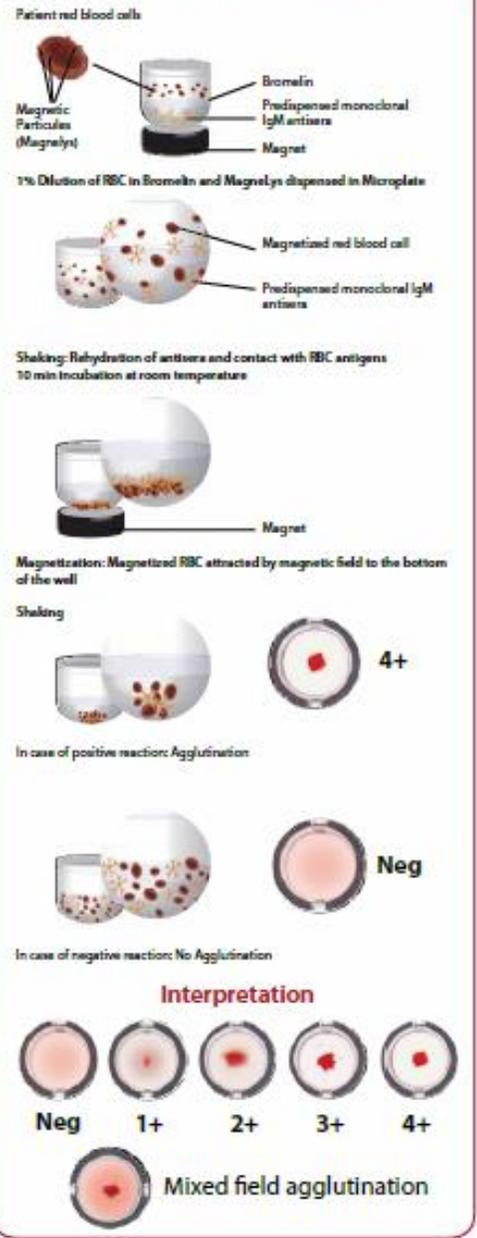


Principle of the Gel Test

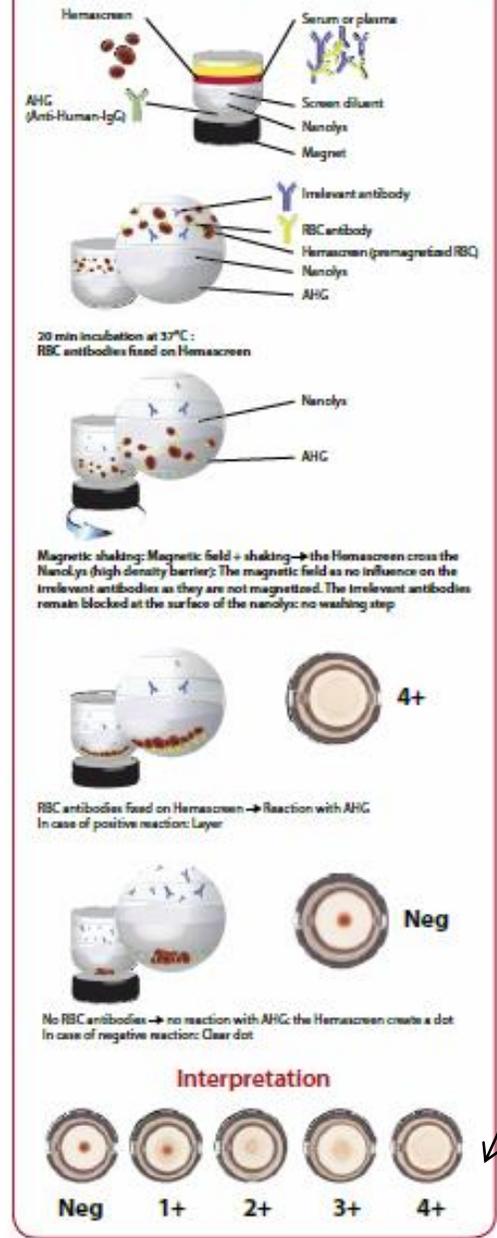


EM Technology

Grouping and phenotyping



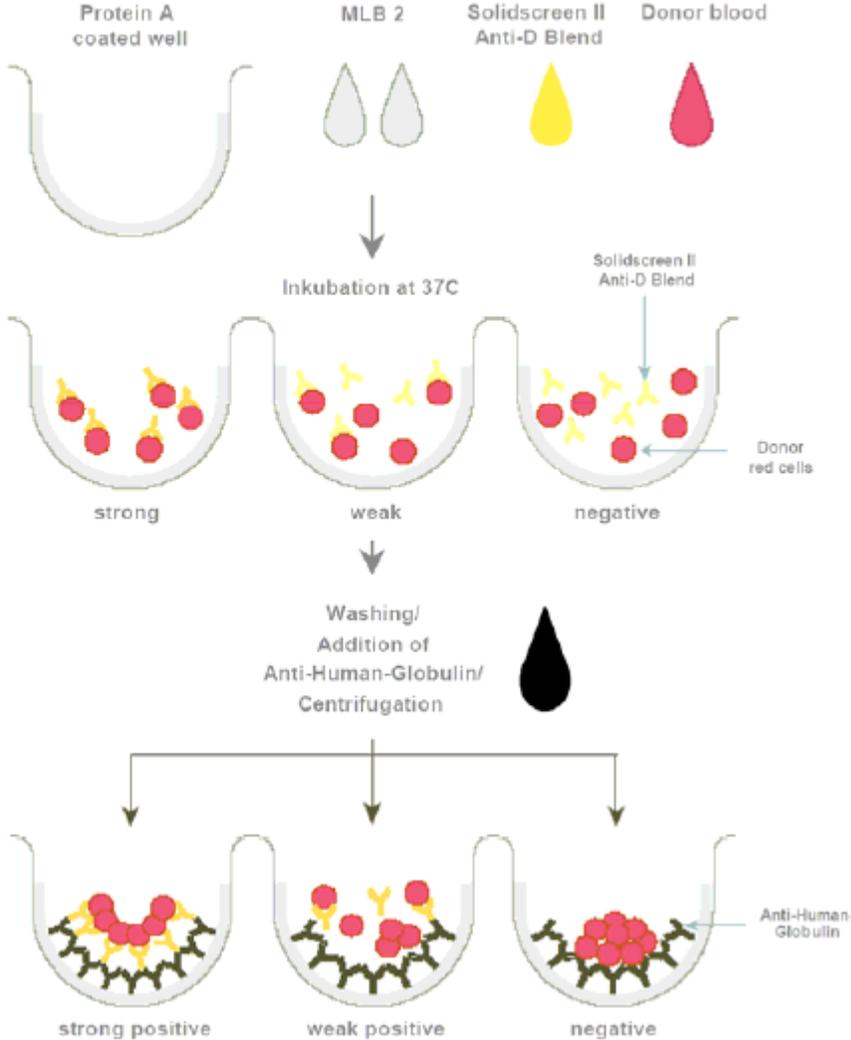
Antibody screening



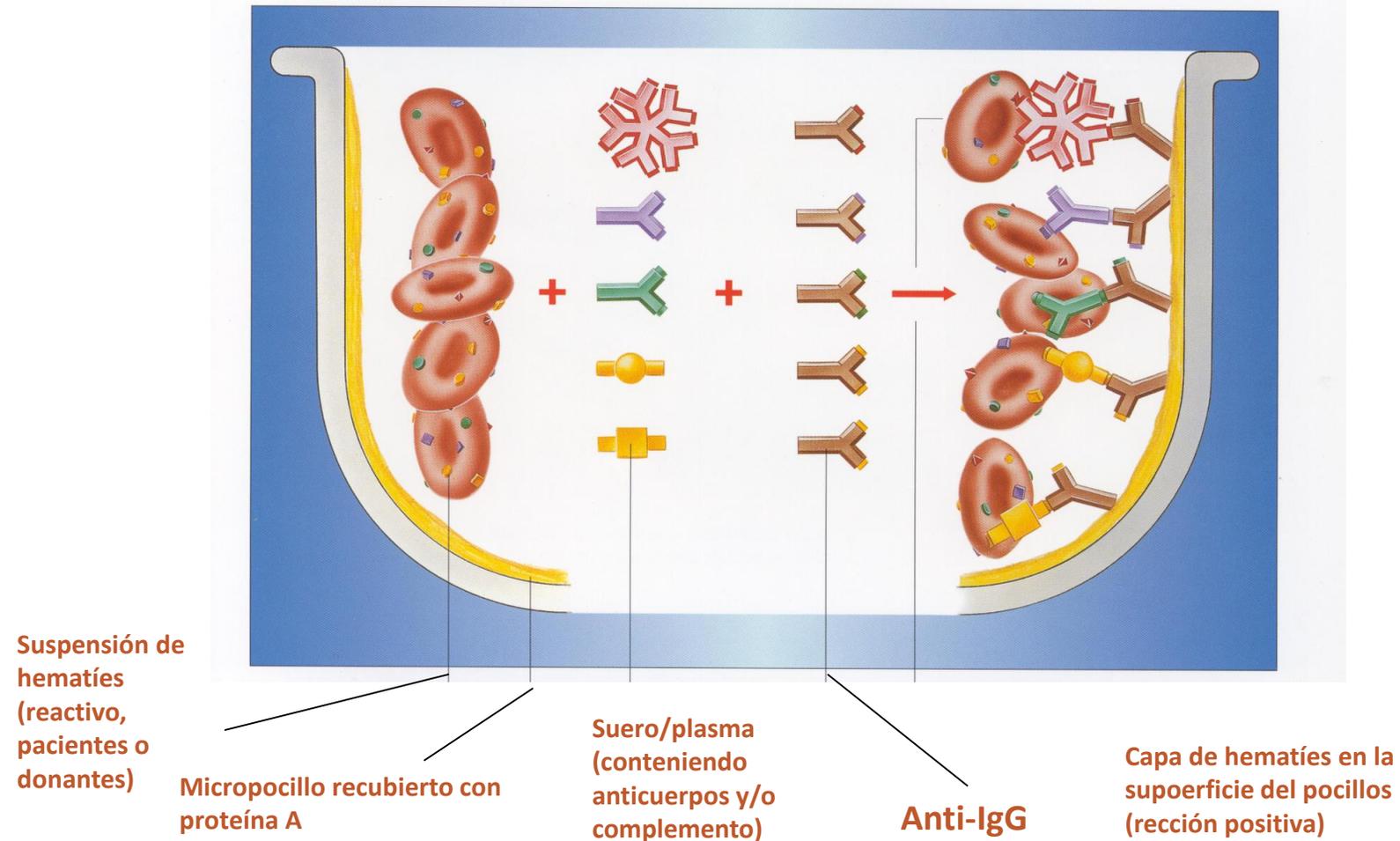
Structure/
reading
similar to
Capture

Biotest Fase Sólida

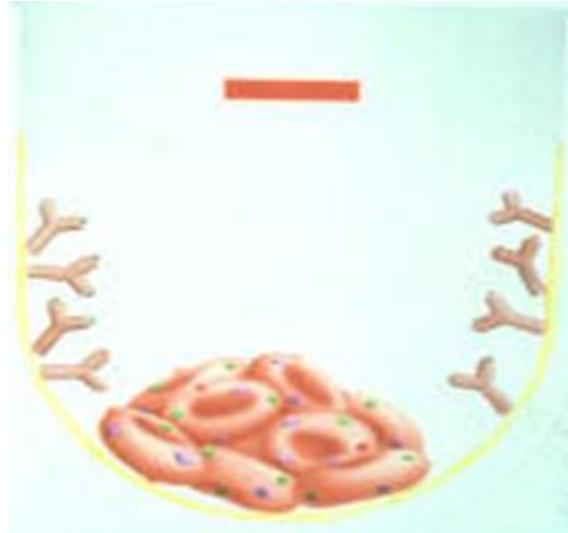
Test principle



Método SolidScreen II



SolidScreen II – Reacción Negativa



Los hematíes no sensibilizados sedimentan en el fondo del pocillo después del último paso de centrifugación

La reacción Negativa es caracterizada por un botón de células después de la centrifugación

SolidScreen II- Reacción Positiva



La porción Fc de la molécula de anticuerpo de AGH es ligada por la proteína A

Los hematíes sensibilizados son ligados a la superficie del pocillo por inmovilización de las moléculas de AGH

Una reacción positiva está caracterizada por una capa de hematíes.

Tecnología Capture-R®

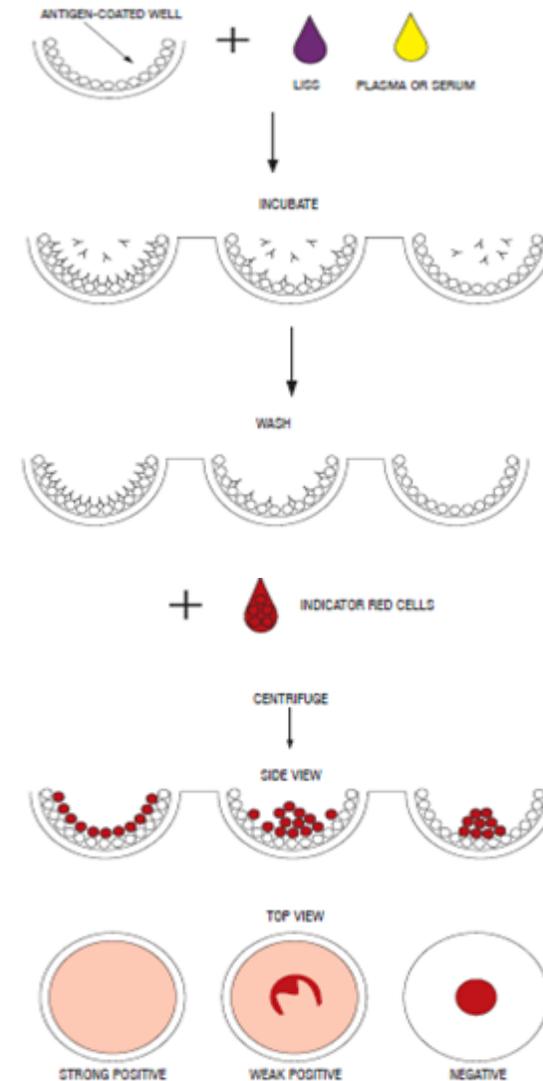
Adherencia de Hematíes en Fase Sólida (SPRCA) Solid Phase Red Cell Adherence



Tecnología de Capture-R[®] Ready

Principios básicos del test

- Los hematíes se fijan a la superficie de los pocillos durante el proceso de fabricación.
- Se adiciona un potenciador (LISS) y plasma/suero de la muestra.
- Los anticuerpos anti-antígenos eritrocitarios son “capturados” por la superficie de pocillo durante la incubación.
- Las inmunoglobulinas no unidas son lavadas del pocillo.
- Se añaden células indicadoras que se fijan (sandwich) a los anticuerpos “capturados” haciéndolos visibles.
- Una *centrifugación* pone a las células indicadoras en contacto con los anticuerpos unidos a las membranas de las células reactivo.



Capture-R[®] Ready-Screen & Ready-ID[®]

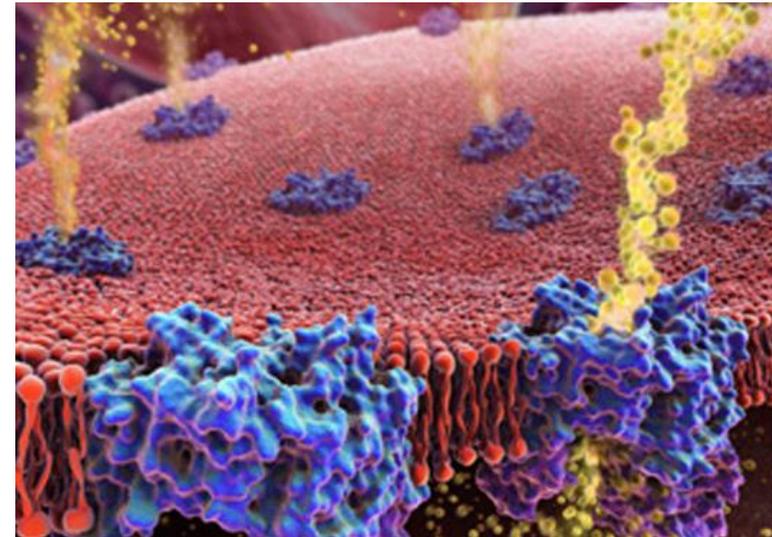
Desde un eritrocito...

Hasta el desecado de su membrana



**Fijado a la superficie
de un micropocillo**

Listo para un test al paciente

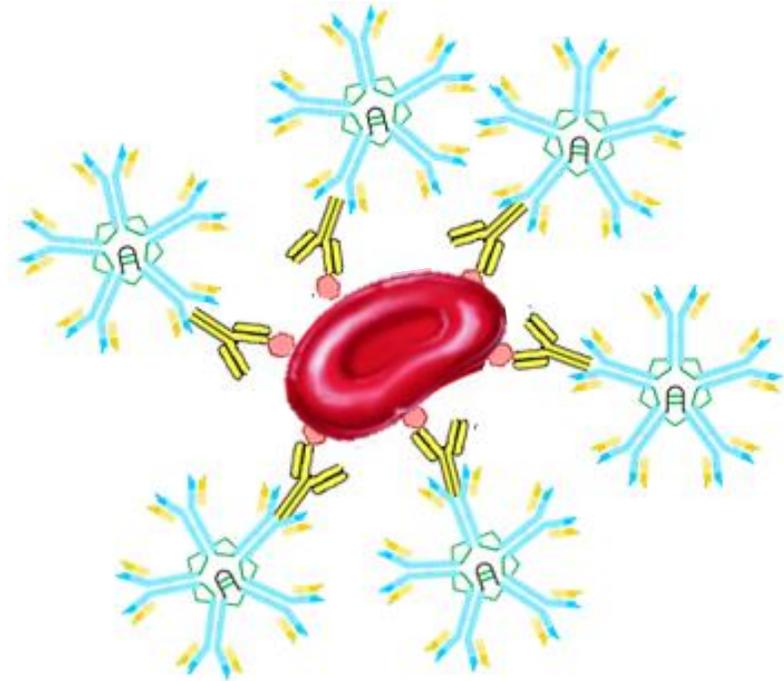


**Los antígenos desecados son estables hasta
120 días desde su fabricación**

Células Indicadoras Capture-R®

Hematies humanos O RhD
positivo sensibilizados con
**Antiglobulina Humana
Monoclonal IgM**

(Anticuerpo antihumano IgM de
ratón, clon 16H8 para IgG1, IgG2 e
IgG3 pero no IgG4).



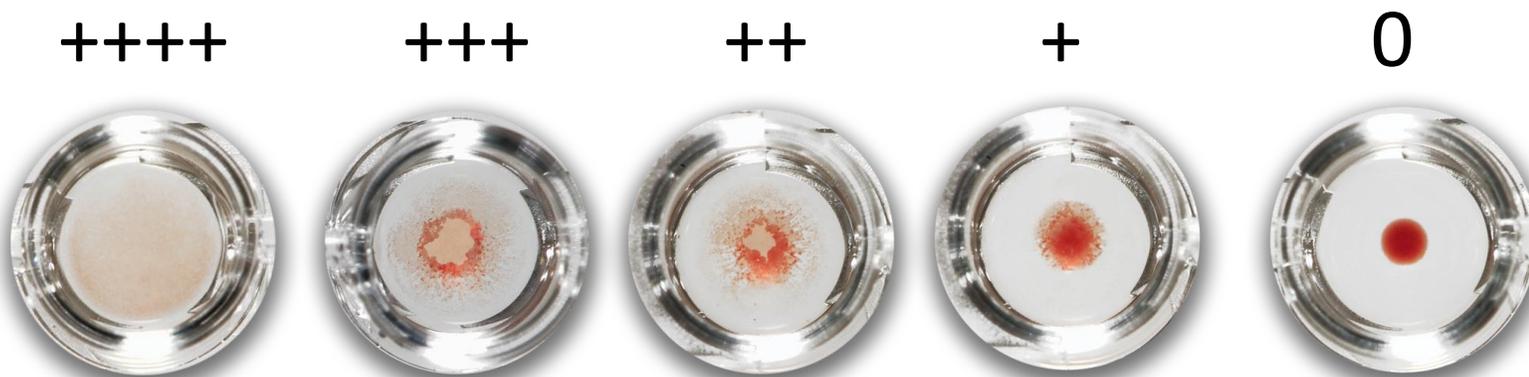
Reacciones de Capture

En un test positivo, las células indicadoras no se pueden mover al fondo del pocillo debido a la formación de complejos Anti-IgG-IgG en la superficie de antígenos de las membranas de hematíes inmovilizados.



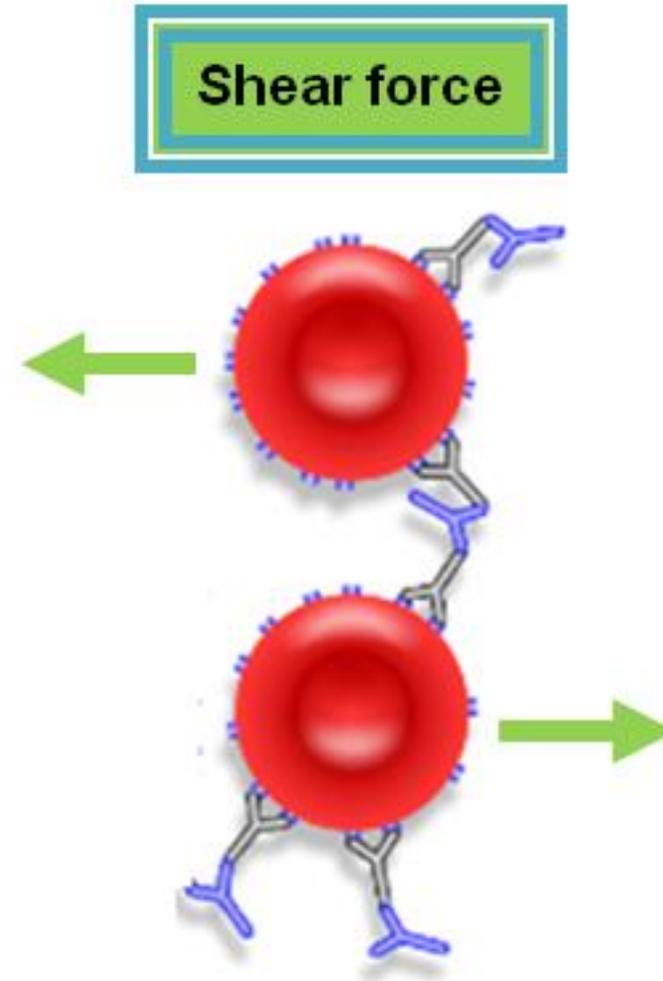
En un test negativo, las células indicadoras están libres y se pueden mover con facilidad al fondo de los pocillos formando un botón de hematíes.

El grado de **adhesión de las células indicadoras** a la monocapa es el indicador clave de las reacciones negativas y positivas.



Distinguiendo entre reacciones positivas y negativas

Para diferenciar entre reacciones Positivas y Negativas, son aplicadas **fuerzas de rotura**, para distinguir células aglutinadas de aquellas que no son fuertemente ligadas por anticuerpos

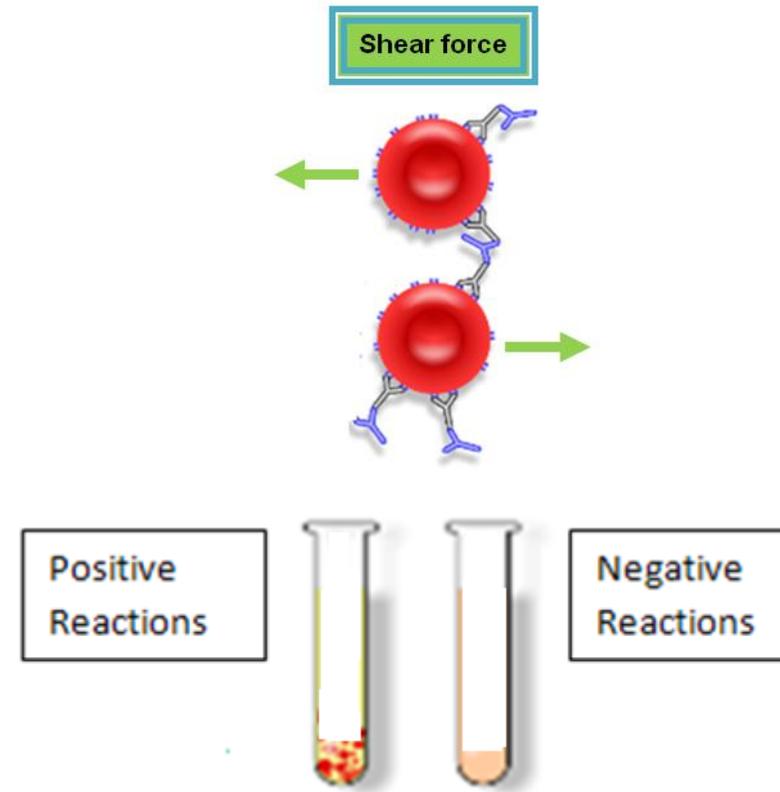


Test en Tubo

Centrifugación e Interpretación

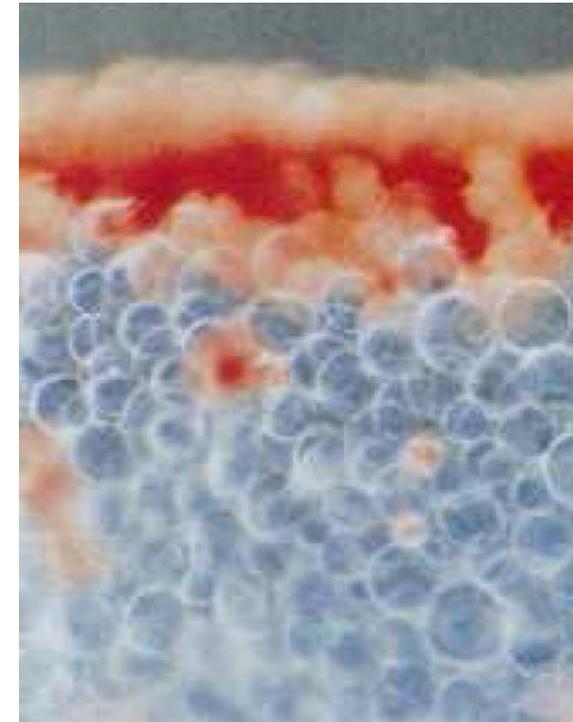
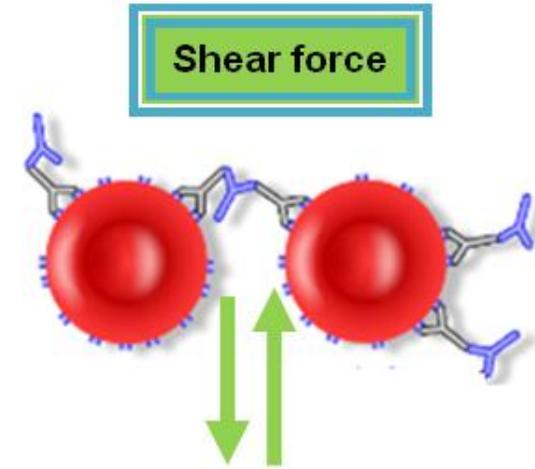
En el test en tubo la **fuerza de rotura** se aplica agitando el tubo.

La desventaja de la aglutinación es el riesgo de disgregación de las reacciones débiles causando falsos negativos.

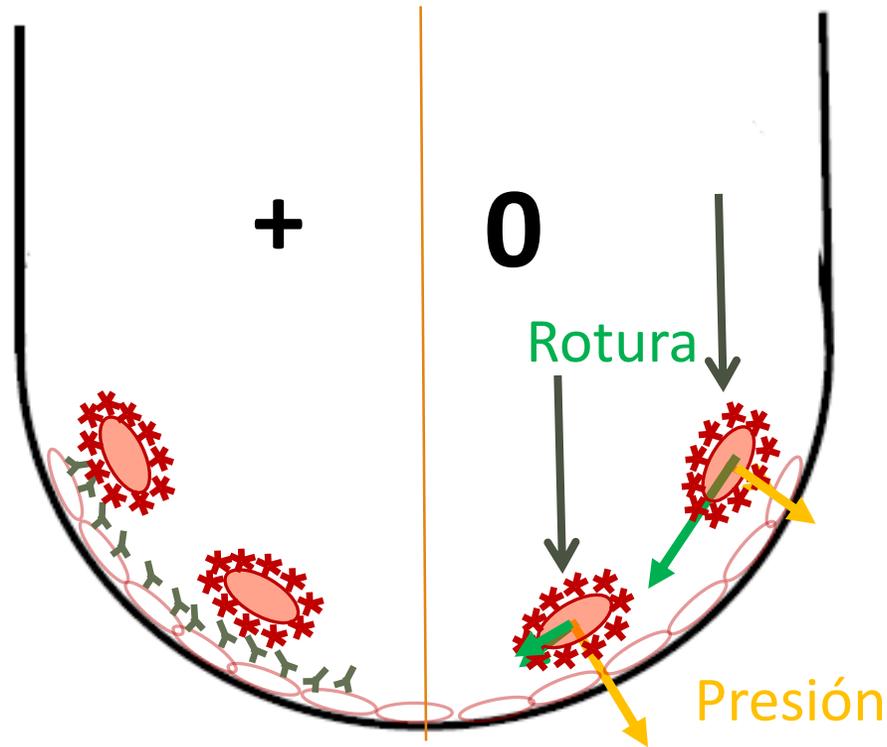


Test de Aglutinación en Columna Centrifugación e Interpretación

En los métodos de Gel/CAT estas fuerzas de rotura las proporciona la centrifugación forzando a las células a pasar por una matriz de gel sephadex o de microesferas de cristal.



Adherencia a fase sólida de hematíes Centrifugación e Interpretación



La mayor oportunidad de los hematíes para ser “capturados” existe mientras la AGH se una a los anticuerpos en la superficie del pocillo.

La combinación entre la fuerzas de rotura y las fuerzas de presión de las fuerzas de centrifugación maximiza las diferencias entre las reacciones positivas y negativas.

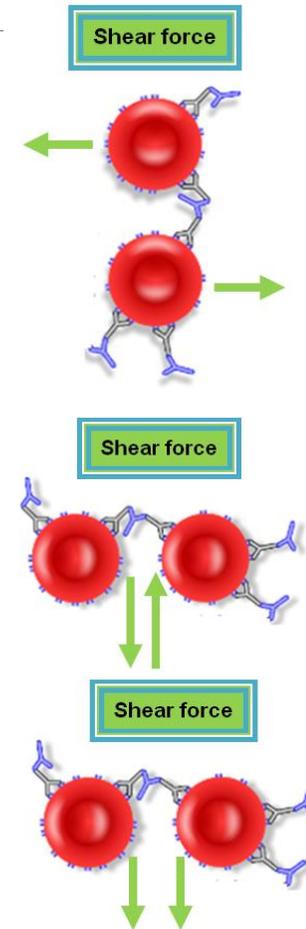
Capture usa adhesión

Diferentes efectos de la fuerza de rotura

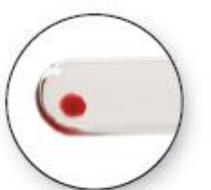
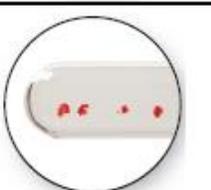
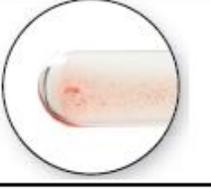
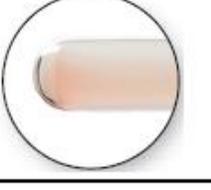
Tubo TAI – Fuerzas de rotura aplicadas mediante la agitación del tubo

CAT/Gel – Fuerzas de rotura a través de la matriz aplicadas por centrifugación

Capture – Emplea las dos fuerzas para promover la adhesión, fuerzas de rotura y de presión



Grados de Reacción – compare los métodos

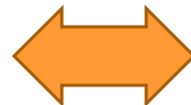
Grading	Capture R	Hemagglutination	Gel / CAT
4+			
3+			
2+			
1+			
0 negative			

Diferencias entre métodos

	Capture-R® Ready Screen & ID	Gel / CAT	Tube
Células de escrutinio	Desecado y fijado en la superficie	Líquido	Líquido
Incubación	Si	Si	Si
Lavado	Si	No	Si
Globulina antihumana	Células indicadoras recubiertas de Anti-IgG monoclonal	AGH Poliespecífica	Adición de AGH Poli o monoclonal
Centrifugación	Si Adhesión	Si Aglutinación	Si Aglutinación
Lectura de la reacción	Sin agitación – Reacción estable	Sin agitación – Reacción estable	Debe leerse inmediatamente. Agitación – no estable

Células de escrutinio – Desecadas versus líquidas

	Hematíes desecados	Hematíes líquidos
Estabilidad	Las células desecadas no se deterioran	Cambios en la superficie durante la vida útil
Almacenamiento	Temperatura ambiente (1-30°C)	Refrigerada (1-10 o 2-8°C)
Vida útil	12 Semanas	4 Semanas
Comparación en el manejo	<ul style="list-style-type: none">• <u>Uso inmediato</u>• Menos pipeteos• Menos manipulación de reactivos, particularmente ventajoso en identificación de anticuerpos	<ul style="list-style-type: none">• Llevar hasta TA• Mayor manipulación de reactivos• Abriendo y cerrando viales



Lavado vs No Lavado

Ventajas del paso de Lavado en Fase Sólida:

Se pueden usar **muestras hemolizadas, lipémicas o ictéricas**

- No hay impacto en la lectura final

La fibrina será removida; no causa reacciones falso positivas:

En el caso de la tecnología CAT/Gel,
la fibrina en la muestra puede bloquear
la columna, lo cual podría evitar el
desplazamiento de las células durante
la centrifugación. La reacción aparecería
como positiva o doble población.

TRANSFUSION MEDICINE ILLUSTRATED



Beware of fibrin residues

Edmond Lee, Shubha Allard, and Nay Win

Tipificación de Grupos Sanguíneos

Grupo ABO:

- Uso de anticuerpos monoclonales
- Configuración de pruebas dependiente de la cantidad de pocillos de reacción.
 - Uso de Anti-AB
 - Globular + Reverso

Factor RH

- Anticuerpos monoclonales, mezcla de monoclonales o policlonales
- Diferenciar pruebas para uso en Pacientes y Donantes
- Capacidad de detección de variantes del antígeno D dependiente de la clona y la metodología utilizada

Otros Grupos Sanguíneos

- Anticuerpos monoclonales o Anticuerpos Policlonales
- Hemaglutinación Directa o en Fase de Coombs

ABO/D typing

- ❖ Patient 1 (D negative (DAT positive) reported as D positive or D variant) 9 errors
 - ❖ 1 data entry error (DiaMed user)
 - ❖ 8 interpretation errors (BioVue users) see Table 1

Table 1 - Incorrect D typing interpretations reported by eight laboratories using BioVue technology

Lab	Automated / manual	Reaction grades recorded			DAT	Interpretation
		Anti-D 1	Anti-D 2	Reagent control		
A	Fully-Automated	Weak	No result	Weak	Positive	O D Positive
B	Fully-Automated	Weak	No result	Weak	Positive	O D Positive
C	Manual	Weak	No result	Negative ¹	No result	O D Positive
D	Fully-Automated	Strong	Strong	Negative ²	No result	O D Positive
E	Fully-Automated	Weak	No result	Negative ^{1,3}	No result	O D Variant
F	Fully-Automated	Weak	Weak	Weak	Positive	O D Variant
G	Fully-Automated	Weak	No result	Negative ²	No result	O D Variant
H	Fully-Automated	Weak	No result	Weak	Positive	UI (ABO) D Variant

¹ Control weakly positive on repeat after closing

² Initial control incorrectly recorded as negative

³ Used a panel of anti-Ds (by IAT) to investigate D variant before initial reporting (without a DAT control)

RhD genotype	Anti-D typing by gel card (ID AB0, Biorad)			Anti-D typing by solid phase (Capture Ready, Immucor)		
	anti-D at screening IgM (TH-28)+IgG (MS-28)		anti-D IAT IgG (ESD IM .175-2)	anti-D at screening IgM (RUM-1)		anti-D IAT IgM (D175-2)+IgG (D4 15-1E4)
	Call	Agglut. score	Agglut. score	Call	Agglut. score (%)	Agglut. score (%)
DD	POS	4+	4+	POS	100	99
weak D type 1	nd	2+	3+	nd	51	99
weak D type 2	nd	1+	2+	NEG	20	99
weak D type 3	POS	3+	3+	nd	64	99
weak D type 4	POS	3+	3+	nd	69	99
weak D type 4.1	nd	2+	2+	nd	46	99
weak D type 4.2	POS	3+	3+	nd	69	99
weak D type 5	NEG	0	2+	NEG	11	88
weak D type 11	NEG	0	0	NEG	15	45
DFR	POS	4+	2+	NEG	14	98
DNB	POS	4+	2+	nd	76	99
D cat. V	nd	2+	3+	NEG	11	87
D cat. VI - type 1	nd	2+	2+	NEG	18	89
weak D 1 / weak D 4	nd	2+	2+	nd	43	99
weak D 2 / weak D 4	NEG	0	2+	NEG	17	78

- Different reactivity due to different anti-D reagents.
- All 3+ reactivity (usually considered normal) had a D variant

Identifying D-positive donors using a second automated testing platform

M. Goldman, I. Resz, J. Cote, G. Ochoa, and N. Angus

Table 1. Typing results, discordant samples

Donor	Galileo IAT	Manual tube						Genotyping		
		Novaclone		Gammaclone		Bioclone		Extended Rh typing	BLOODchip reference	DNA sequencing
		IS	IAT	IS	IAT	IS	IAT			
1	3+	0	1+	0	1+	0	1+	Ccee	D+	Variant of exon 7, <i>RHD*1018A</i>
2	4+	0	1+	0	0	0	1+	Ccee	No call	Variant of exons 5,6, <i>RHD*712A,809G</i>
3	3+	0	0	0	1+	0	0	Ccee	D+	Weak D, type 67
4	2+	0	0	0	1+	0	1+	Ccee	No call	Weak D, type 9

98

IMMUNOHEMATOLOGY, Volume 29, Number 3, 2013

Weak D type 38: a frequent D variant in Brazil detected only by solid-phase testing

Arnoni CP¹; Muniz JG¹; Person RDM¹; Vendrami TAP¹; Castilho L²; Latini FRM¹

Table 1. Donors Amount in first donation or with previous donations

	First donation	Repeted donor
Weak D type 11 (7)	1	6
Weak D type 38 (48)	16	32

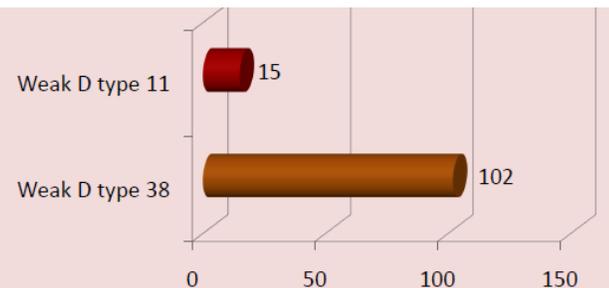


Figure 1. Number of Previous Donation typed as D-negative

RESULTS

From 2.900 samples submitted to confirmatory test 55 blood donor samples classified as D-negative by GEL-IAT showed positive reactions in Immucor NEO® by Capture-R. Through multiplex PCR for specific regions of *RHD* gene (Intron 4, exon 7) and *RHΨ* we confirmed that all these samples were D-positive. Sequencing showed that 48 samples were weak D type 38 (*RHD*833A*) and 7 were Weak D type 11 (*RHD*855T*). The previous donations are summarized in table 1 and figure 1.

Investigación de Anticuerpos Irregulares

In search of the Holy Grail: comparison of antibody screening methods

T.S. CASINA

"El viejo dicho de que ningún método podrá detectar todos los anticuerpos de importancia clínica no es diferente hoy en día en los métodos de detección de anticuerpos por medio de nuevas tecnologías tanto en procesos manuales como en sistemas automatizados de lo que era en los métodos de prueba de tubo que los servicios de transfusión han utilizado durante los últimos 50 años".

*Tony S. Casina, MT(ASCP)SBB, Technical Marketing
Manager, Ortho-Clinical Diagnostics, 1001 US
Highway 202, Raritan, NJ, 08869.*

Rendimiento Analítico

Medida	Calculos	Significado
Sensibilidad	$TP / (TP + FN)$	¿Cuanta seguridad tengo de que una muestra que contiene un anticuerpo dará un resultado positivo?
Especificidad	$TN / (TN + FP)$	¿Cuanta seguridad tengo de que una muestra sin anticuerpos dará un resultado negativo??

Medida	Cálculos	Significado
Valor Predictivo Negativo	$TN / (TN + FN)$	¿Cuanta seguridad tengo de que la muestra de la que se ha informado un resultado negativo no contiene un anticuerpo?
Valor Predictivo Positivo	$TP / (TP + FP)$	¿Cuanta seguridad tengo de que una muestra informada como positiva realmente contiene un anticuerpo?

Sensibilidad

RENDIMIENTO ANALÍTICO

Falsos Negativos

Los test pretransfusionales se realizan para detectar anticuerpos capaces de provocar reacciones RTH en receptores o EHRN en embarazadas

Fallos en la detección de anticuerpos clínicamente significativos supone:

Riesgo de RTH en paciente, lo que puede ser evitado seleccionando la sangre correcta

Y

Riesgo de EHRN para el feto lo cual puede ser evitado

Una elevada sensibilidad ES MUY IMPORTANTE para los usuarios del test de EAI

Sensibilidad para la Detección de Anticuerpos

Transfusion Medicine, 2006, **16**, 276–284

doi: 10.1111/j.1365-3148.2006.00674.x

ORIGINAL ARTICLE

Comparison of the performance of microtube column systems and solid-phase systems and the tube low-ionic-strength solution additive indirect antiglobulin test in the detection of red cell alloantibodies

V. Weisbach, T. Kohnhäuser, R. Zimmermann, J. Ringwald, E. Strasser, J. Zingsem & R. Eckstein *Department of Transfusion Medicine and Hemostaseology, Friedrich-Alexander-University Erlangen - Nürnberg, Erlangen, Federal Republic of Germany*

El autor analizó 446 muestras conteniendo anticuerpos con significado clínico.

Metodo	DiaMed-ID	Ortho BioVue	Bio-Rad Scangel	CLB Mast Cell-Bind	Biotest Solid Screen	Immucor Capture-R
sensibilidad	94 %	91 %	95 %	94 %	90 %	97 %

Plymouth comparison study 2013

En un periodo de más de 6 meses se realizaron 25,500 escrutinios de anticuerpos y se identificaron 118 “positivos nuevos”

Se refieren para investigación por CAT

Solo el 52% de estos escrutinios positivos por Capture fueron también positivos por CAT

Las 66 muestras (48%) que fueron negativas por gel fueron probadas usando Capture R ID

Se identificaron anticuerpos específicos en 55 muestras

Antibody Detection at its Best!

Plymouth Hospitals 
NHS-Trust

Harle-Stephens, S¹; Conway, C²; Nest, P²; Smalldge, G²; Waltham, L²; Copplestone, JA¹.

¹Derriford Hospital, Plymouth Hospitals NHS Trust, Plymouth, UK,

²IBG Immucor Ltd, Shoreham-by-Sea, West Sussex, UK.

Introduction

In Plymouth Hospitals NHS Trust, two different serological technologies have been routinely used for antibody screening and identification: Immucor Capture and Bio-Rad ID-system column agglutination technology (CAT). Discrepancies were identified between the results obtained using both methods; predominantly positive results allowing an antibody specificity to be assigned using Capture yet negative results obtained by CAT suggesting antibodies were being missed by CAT which could lead to haemolytic transfusion reactions (HTR).

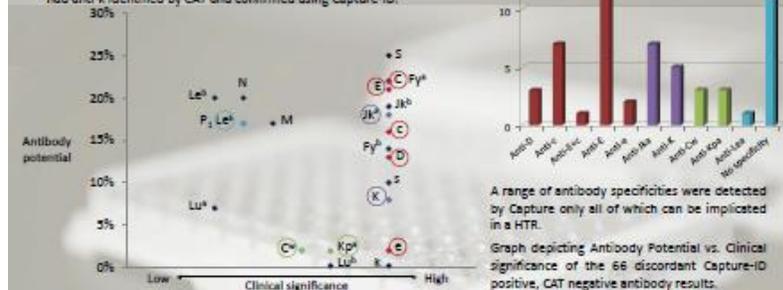
Methods

Routine antibody screening for patient samples was performed using Immucor NEO analyzers using a 3-cell automated Capture-R antibody screen. All samples with a positive antibody screen were investigated further to determine the antibody specificity using a combination of automated Capture-ID and manual CAT method using an NHSBT Reagents panel or Bio-Rad ID-DiaPanel. Panel selection was made following a laboratory algorithm for antibody investigation.



Results

118 patient samples tested as first time positive using Capture-R antibody screen and required further investigation following the laboratory algorithm. 32 of these samples had an antibody specificity identified using CAT, with no Capture panel performed. 66 samples resulted in a negative antibody panel in CAT, yet an antibody specificity was identified using Capture ID. One sample had specificity identified in CAT (anti-E) and a second antibody identified in Capture (anti-E and anti-Kp^a). One sample had anti-k identified by CAT and confirmed using Capture-ID.



A range of antibody specificities were detected by Capture only all of which can be implicated in a HTR.

Graph depicting Antibody Potential vs. Clinical significance of the 66 discordant Capture-ID positive, CAT negative antibody results.

Conclusions

As a result of this work, the laboratory algorithm for antibody investigation has been amended and automated Capture-ID is used as the primary panel for antibody identification, which is cost-effective, easy to use, maintains a complete audit trail and ensures the same technology is standardised throughout the entire antibody detection process. Two additional Capture panels, Extend I (RhD-positive cells) and Extend II (RhD-negative cells) are now used to support further serological investigations enabling the laboratory to rationalise the requirement for CAT cell panels. Patients tested previously using CAT only where an antibody specificity was identified will be re-tested using Capture-ID on next admission.

References

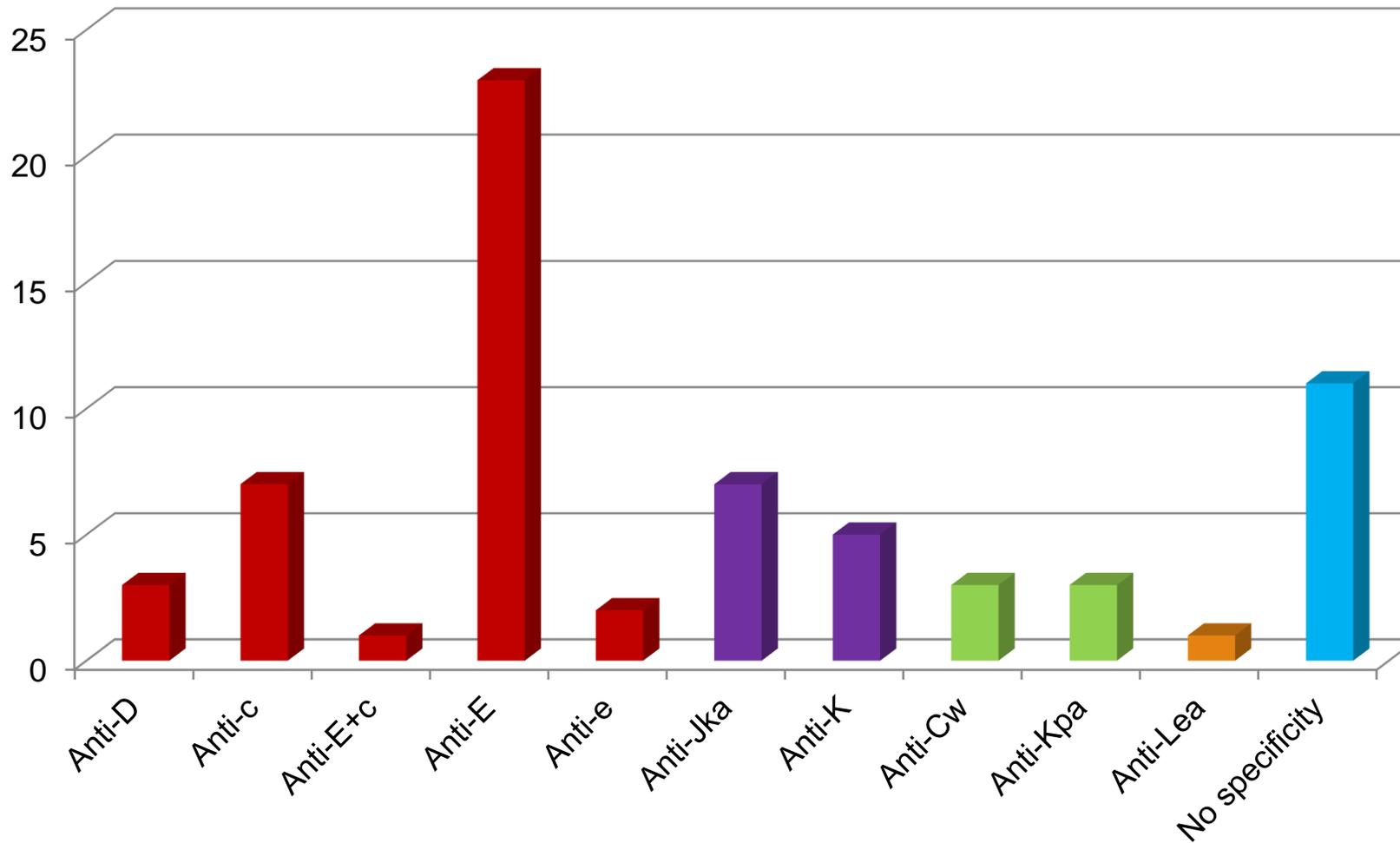
Daniels, et al. "The clinical significance of blood group antibodies", *Transfusion Medicine*, 2002; Reid, et al. *The Blood Group Antigen Facts Book*, 2004; Robeck, et al. *AABB Technical Manual*, 2008.



Leading with excellence, caring with compassion



Plymouth study – Capture positive, CAT negative

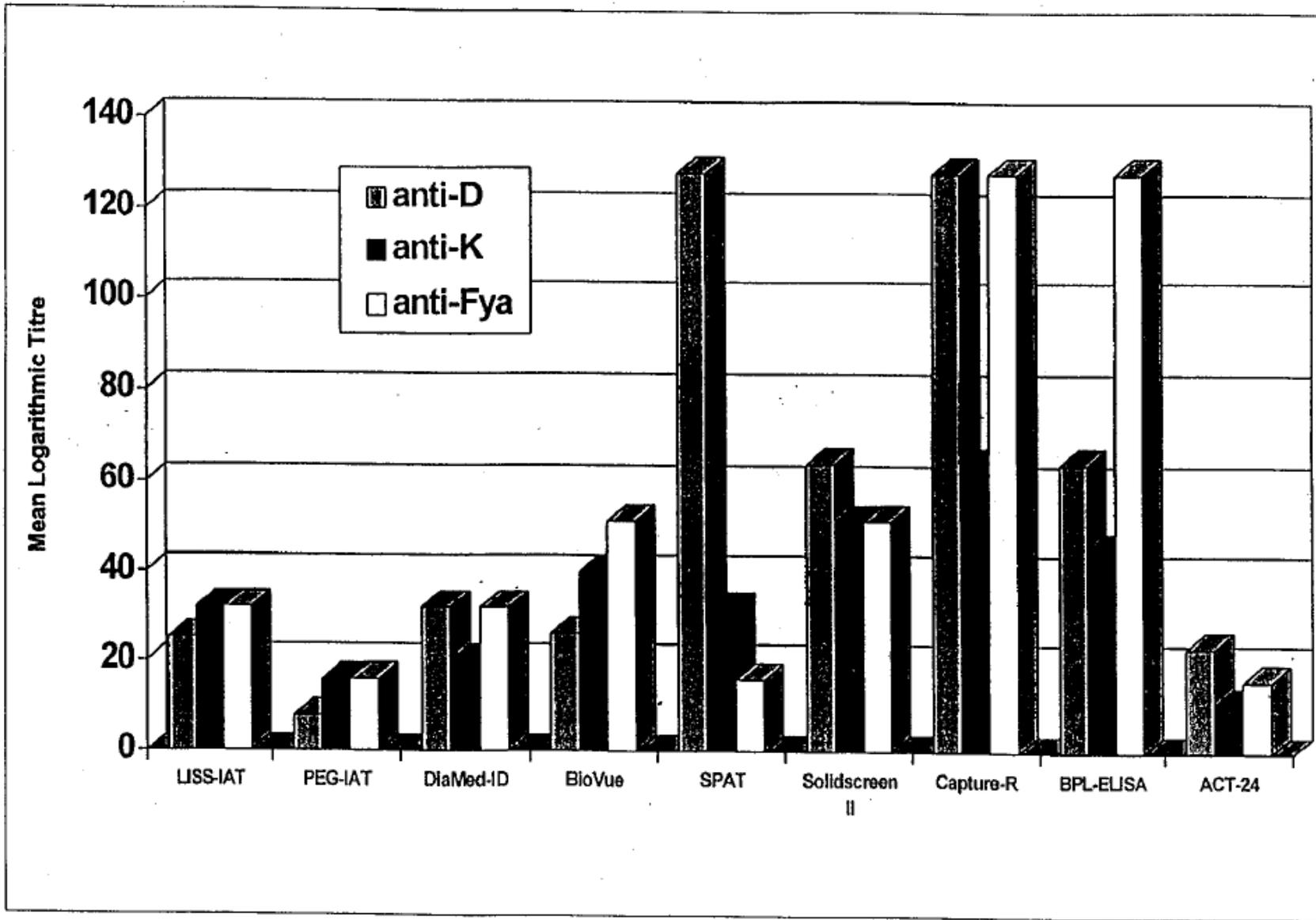


Estudios de titulación: Límites de detección

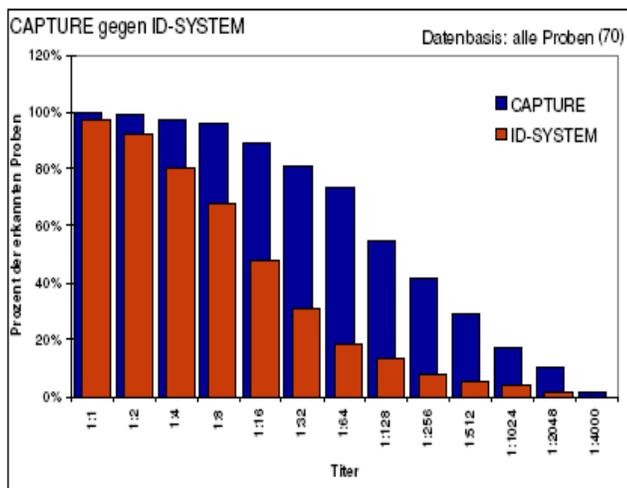
Indican la habilidad del test detectando concentraciones bajas de anticuerpos.

Una muestra anticuerpo-positiva se diluye en serie 1:2, 1:4, 1:8, 1:16..... 1:2048 etc.

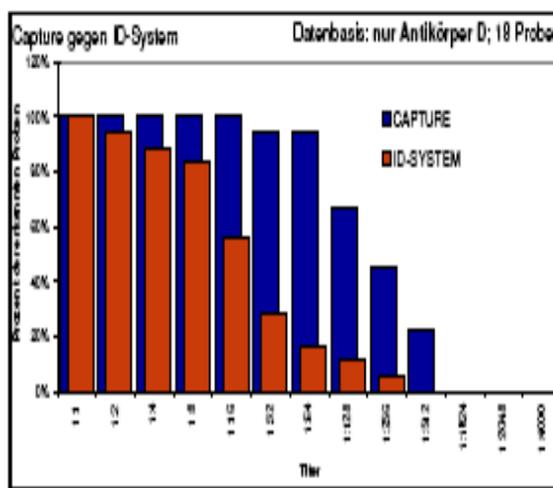
El “título” o “punto final” es la mayor dilución en la que se observa una reacción positiva.



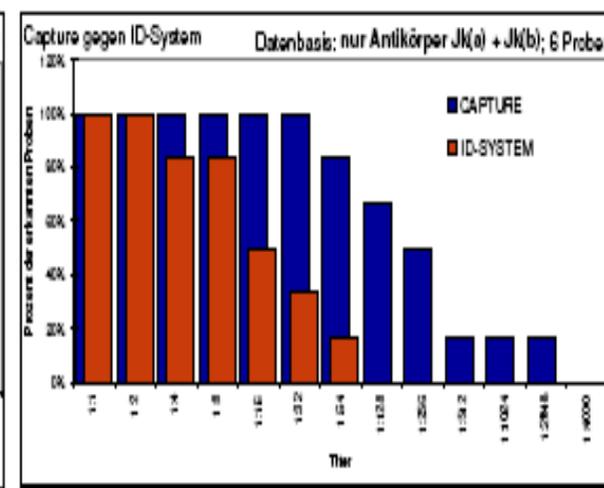
Estudios de Titulación Capture-R® comparado con DiaMed ID



Todos (70) los anticuerpos



Anti-D (19 muestras)



Anti-Jk^a y Jk^b (6 muestras)

J Burkhardt et al: Comparative clinical trial of the sensibilidad of Solid Phase Screen System Capture-R Ready-Screen Gel Centrifugation (Diamed-ID Micro Typing System)

DGTI 2004 (Poster)

Comparison of a gel microcolumn assay with the conventional tube test for red blood cell alloantibody titration

Rachel Finck, Carrie Lui-Deguzman, Shih-Mao Teng, Rebecca Davis, and Shan Yuan

TABLE 1. Antibody titer by GMA compared to CTT

CTT	GMA										Total	
	0	1	2	4	8	16	32	64	128	256		512
0			1									1
1		3	1									4
2			2									2
4			1	7	6							14
8				2	5	1						8
16					2	1	1	1				6
32					3	1						4
64							2					2
128							1	3				4
256										2		2
512										1	1	2
												48

TABLE 2. Correlation of samples in CTT versus GMA by antibody specificity

	Number	Identical	Higher by CTT	Higher by GMA	Mean difference in titers (GMA—CTT)*
Anti-D	11	4	4	3	-0.09
Anti-K	15	5	10	0	-0.9
Anti-E	13	8	1	4	+0.31
Anti-e	3	2	0	1	+0.33
Anti-c	5	1	1	3	+0.6
Anti-C	1	1	0	0	0
Total	48	21	16	11	
					Mean difference: +0.04

* Expressed in logarithmic scale to the Base 2.

Finck et al. "Comparison of a gel microcolumn assay with the conventional tube test for red blood cell antibody titration". *TRANSFUSION* V. 53, Apr 2013 p. 811-815

Qué hay sobre el límite de detección?

Los límites de detección a menudo se comparan por titulación.

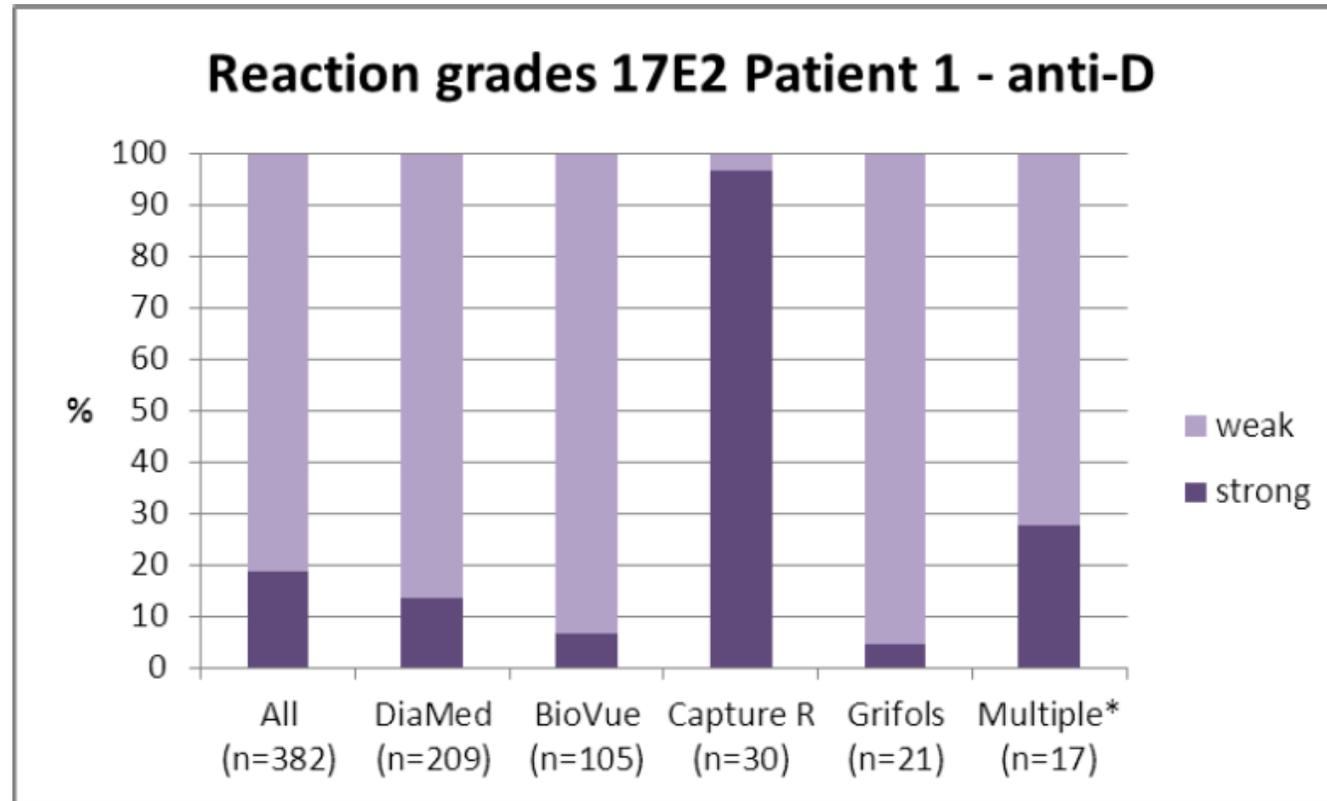
En UK existe el estándar de que un Anti-D debe ser detectado a una concentración de 0.1 ui/ml (20 ng/ml en Francia)

Se recomienda a los laboratorios usar 0.05 ui/ml como la sensibilidad mínima en la validación de instrumentos.

Existe un estándar internacional de Anti-D de la NIBSC disponible para la validación de sistemas para este requerimiento.

NEQAS Anti-D Standard (17E2)

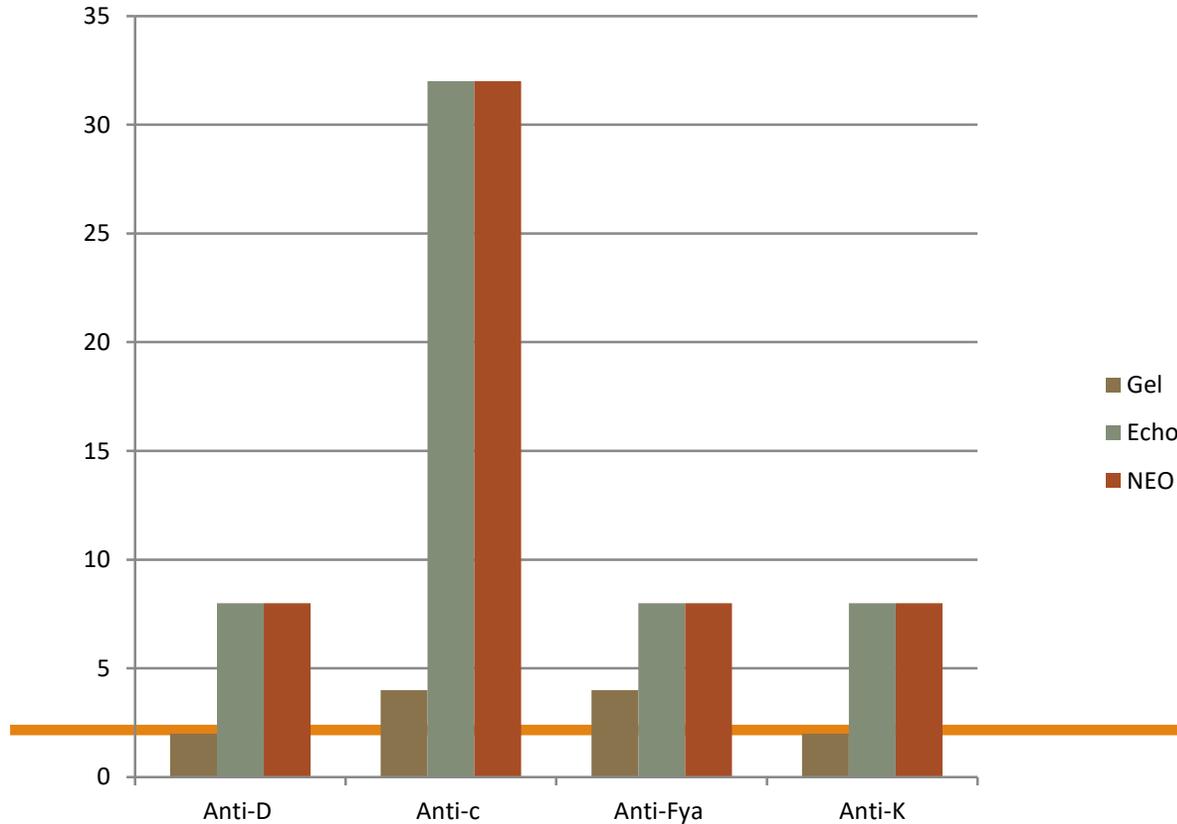
Antibody screening reaction grades by IAT technology



All laboratories were able to detect the UK NEQAS 'standard' anti-D. The reaction grades recorded are similar to those obtained the last time it was distributed in May 2016. The UKNEQAS 'standard' anti-D continues to be suitable for use to monitor sensitivity in antibody screening.

Límite de detección de Capture

Título



Titration of National Blood Service weak Antibody controls

Experimento realizado en Atlanta el 3/5/2010 Usando Capture RS3 Las mismas células de donante se utilizaron en el sistema de gel (MTS).

Referencia título = 2 (con Diamed gel cards)

Límites de detección para los controles débiles de anticuerpos del Servicio Nacional de Sangre de UK

Antibody	Reference Titre	Galileo Titre
Anti-D	0.1iu/ml	0.0125 iu/ml
Anti-Kell	2*	16
Anti-Fya	2	8
Anti-c	2	16

* Instructions for use state “mean titre of 2 with K+k+ cells by DiaMed gel IAT”

Source: ISBT 2009 M. Herbert, New Cross Hospital, Wolverhampton

Especificidad

RENDIMIENTO ANALÍTICO

Positivos no deseados

Anticuerpos no deseados en
escrutinio de anticuerpos =
Trabajo extra

- Paneles de identificación
- Selección de bolsas que son “compatibles” con anticuerpos sin significado clínico.
- Pruebas cruzadas
- Retraso en la Transfusión

Retrasos en la Transfusión:
Riesgo significativo
para el paciente

+

Coste de realizar test
suplementarios

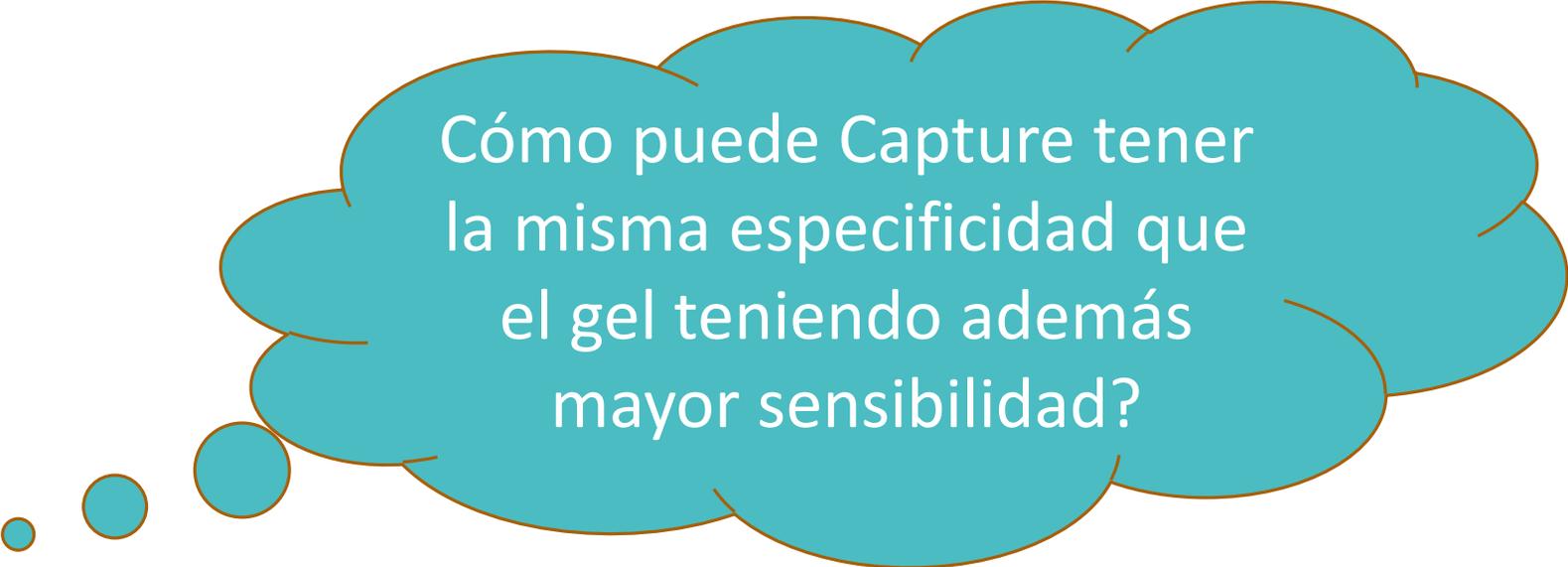
La alta especificidad
es muy importante
para los usuarios de
escrutinio de
anticuerpos

Especificidad – en el artículo de Weisbach

Chequeado en selección aleatoria de pacientes (3,500)

Capture – 94%

Gel – 94%



Cómo puede Capture tener la misma especificidad que el gel teniendo además mayor sensibilidad?

Especificidad – una cita de Weisbach (2006)

Mejora en la formulación de las células indicadoras al usar un nuevo AHG monoclonal

Estos resultados muestran una marcada mejora en las prestaciones de Capture R desde 1997.



These results show a marked improvement in the performance of Capture-R since 1997, when Issitt *et al.* reported a very low rate of cs-ab of 33.3% out of 125 positive antibody screens in a series of 1184 samples compared to the results of the UAT method, which resulted in 100% positive results.

Introducción de la automatización
Procesos de ensayo completamente estandarizados

“ReadyScreen” con 4 células predispensadas (y desecadas) reemplazando a las células de escrutinio líquidas dispensadas durante el proceso.

Issitt, P.D., Combs, M.R. & Bradshaw, T. (1997) Comparison of a solid phase and polyethylene glycol (PEG) IAT method in a large transfusion service [abstract]. *Transfusion*, 37 (Suppl.), 28S.

Anticuerpos No identificables pueden convertirse en Ac de Significado Clínico

Se evaluaron muestras de pacientes con resultados clasificados previamente como “Falso Positivos” (inconclusos)

SP312

Early Antibody Detection using Solid Phase Technology

A Stein¹ (astein2@nshs.edu), N M Nikolis¹, J Fischman¹, W Heaton², L E Logdberg¹, S Sanchez-Riffle¹, J Zenker¹. ¹Transfusion Medicine, North Shore University Hospital, Manhasset, NY, United States; ²Transfusion Service, Hofstra North Shore-LIJ School of Medicine, Manhasset, NY, United States

FPA: Falsos Positivos en el Escrutinio de Anticuerpos

ASPM: Metodo de Fase Solida Automatizado

ABSCN: Grupo Control con resultado inicial de escrutinio de anticuerpos negativo

Follow-up Antibody Identification Results

Antibody	Previous FPA w/ New ABID (n = 188)	Previous Neg ABSCN w/ New ABID (n = 397)
Non-specific	14	0
Anti-E	6	6
Anti-Jka	4	4
Anti-Jkb	4	0
Anti-C,K	1	0
Anti-K	0	2
Anti-C	0	1
Anti-c	1	0
Anti-V	1	0
Anti-Leb	1	0
Anti-M	0	1
Totals	32	14
Frequency of Specific Antibodies	9.6%	3.5%

EVALUACIONES A GRAN ESCALA

RENDIMIENTO ANALÍTICO

“ Comparativa entre dos métodos automáticos para la detección e identificación de aloanticuerpos eritrocitarios”

G.Garozzo, V. Licitra, R. Criscione, N. Comitini, C. Noto, R. Loma
Blood Transfusion 2007; 5: 33-40

Escrutinio de anticuerpos de 2229 muestras aleatorias de un hospital de Sicilia

IMMUCOR	ORTHO
•Capture-R ready Screen IV	•BioVue, Surgiscreen 3 cells 0,8%,
•Capture-R ready ID	•Resolve Panel A 0,8% (11 emazie)
•Capture-R Ready -ID Extend I	•Resolve panel B 0,8% (11 emazie)
•Capture -R Ready -ID Extend II	•Resolve panel C 0,8% (panel A trattato con ficina).

Método	Positivo	Indeterminado, y confirmado	Indeterminado no confirmado
Immucor Capture-R Galileo	96/2299 (4.2%)	3/2299 (0.1%)	15/2299 (0.6%)
Ortho BioVue Autovue Innova	89/2299 (3.9%)	2/2299 (0.1%)	17/2299 (0.7%)

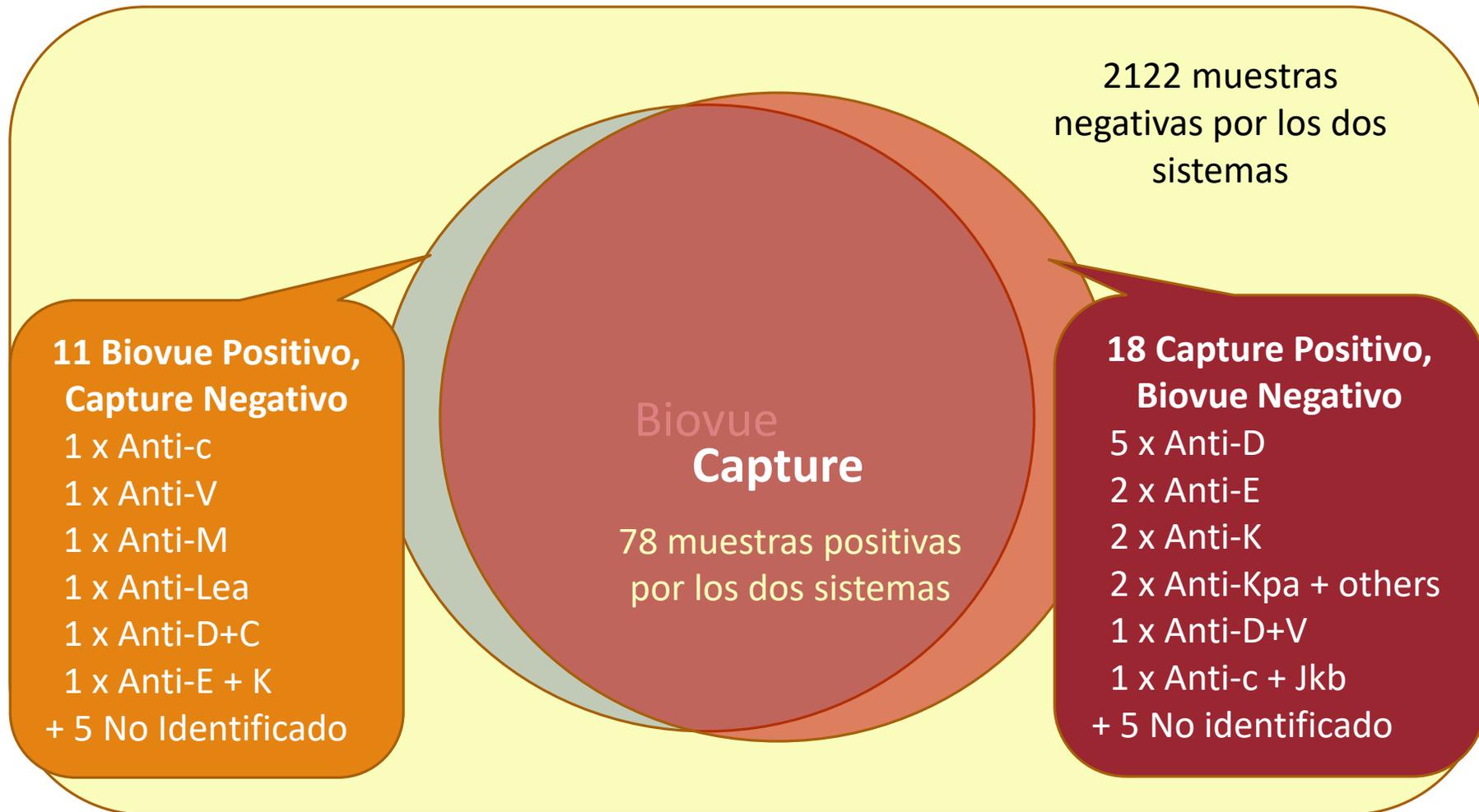
Escrutinio de anticuerpos de 2229 muestras aleatorias de un hospital de Sicilia

	Tot. Positivo	Muestras con anticuerpos identificados	Muestras con anticuerpos no identificados	Panaglutininas
Immucor Capture-R	96	65	19	12
Ortho BioVue	89	61	22	6

"A comparison of two automated methods for the detection and identification of red blood cell alloantibodies"

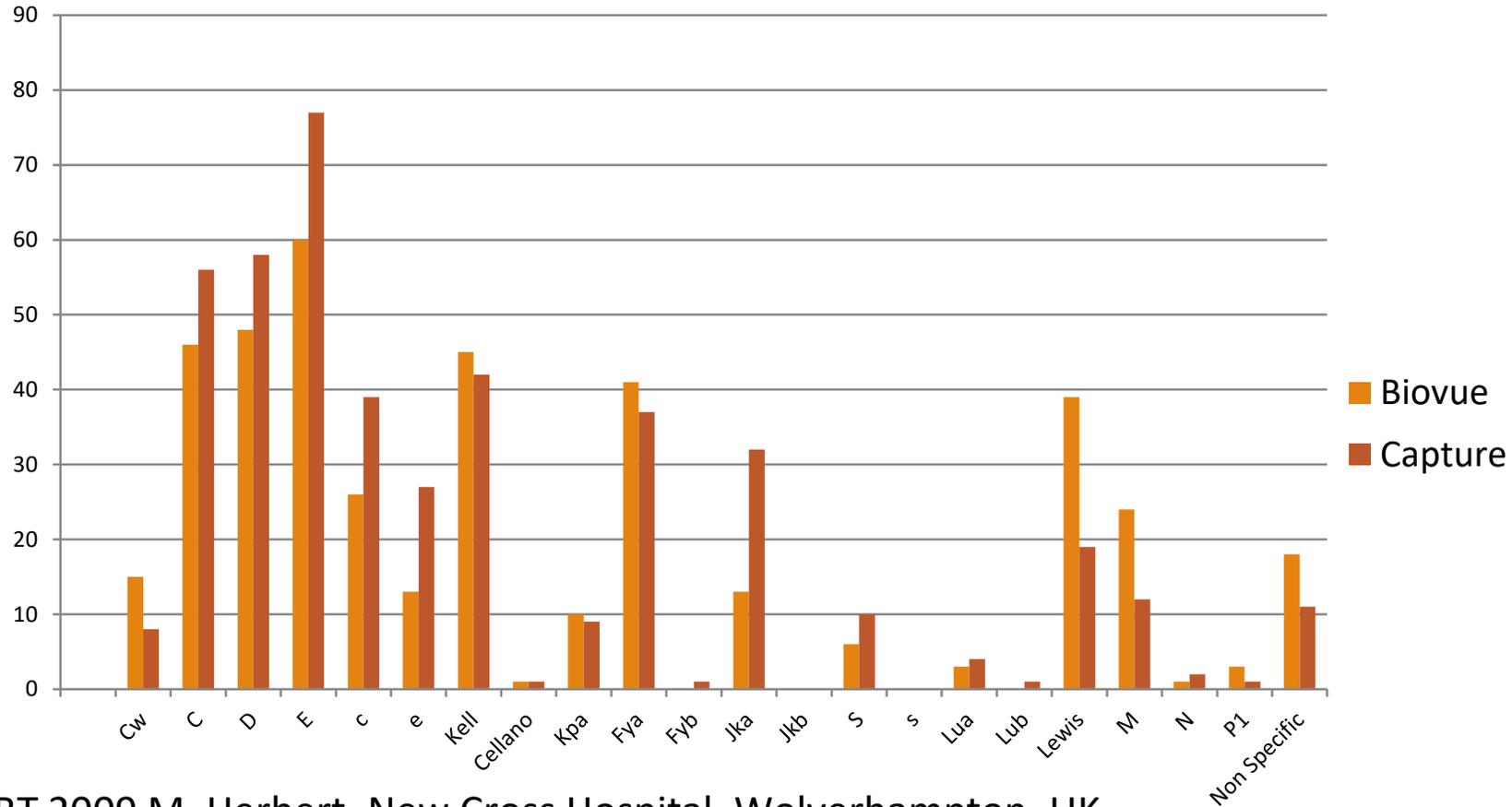
G. Garozzo, V. Licitra, R. Criscione, N. Comitini, C. Noto, R. Lomagno, D. Ruta, G. Spadola, V. Zago, P. Bonomo.
Blood Transfusion 2007; 5: 33-40

Escrutinio de anticuerpos de 2229 muestras aleatorias de un hospital de Sicilia



Cambios en la detección de anticuerpos cuando el método de escrutinio cambia

Comparativa entre la Frecuencia de Anticuerpos utilizando las técnicas de escrutinio de Ortho BioVue e Immucor Capture-R (35.000 muestras analizadas)



ISBT 2009 M. Herbert, New Cross Hospital, Wolverhampton, UK

Capture reduce el ratio de anticuerpos no detectados

Poster de UCLA presentado en la AABB 2007

UCLA cambio en 2005 de Gel/Megaflex a Capture/Galileo.

Revisaron su datos para identificar el impacto del cambio de tecnología en su servicio de transfusión.

The year before Galileo

Periodo	Método	Número de muestras analizadas	Número de IDs de Ac realizados (%)	# IDs de Ac realizados con nuevos Acs Post Transfusión (%)
7/04 – 6/05	Gel	38,893	856 (2.2%)	52 (0.13%)

Capture reduce el ratio de anticuerpos no detectados

Poster at AABB 2007 from UCLA

% de positivos en EAI no se incrementa

Incidencia de las reacciones transfusionales serológicas disminuye de 1 por 750 muestras a 1 por 1900

Periodo	Metodo	Número de muestras analizadas	Número de de Ac realizados (%)	#Ac Investigación Post Transfusional (%)
7/04 – 6/05	Gel	38,893	856 (2.2%)	52 (0.13%)
3/06 – 2/07	Capture	42,271	883 (2.1%)	22 (0.05%)

Determination of optimal method for antibody identification in a reference laboratory

J.R. Haywood, M.K.G. Moulds, and B.J. Bryant

Table 4. Tube and solid-phase methods agree

Tube and solid-phase results	Gel results
Anti-c, E, K, S, Ch (all cells positive)	3 cells negative; no pattern
Anti-C, S	Anti-S
Anti-C, warm autoantibody	No pattern
Anti-D	4 of 5 D+ cells positive
Anti-D, C, Jk ^a , warm autoantibody	No pattern
Anti-e	1 e+ cell negative
Anti-E, Fy ^a	No pattern
Anti-E, Fy ^a	All cells positive
Anti-E, K, Jk ^b	Anti-E, K, few other cells positive (not Jk ^b)
Anti-Jk ^b	Anti-Jk ^b , one additional cell positive
Anti-K	Anti-K, other cells positive

Anti-K	Anti-K, other cells positive
Anti-M	One cell positive
Cold autoantibody	No pattern
Cold autoantibody	No pattern
Cold autoantibody	No reactivity
No reactivity	Weak reactivity
No reactivity	8 of 11 cells positive
No reactivity	1 cell positive
No reactivity (prev Anti-E, K)	Anti-E
Warm autoantibody	6 of 11 cells positive
Warm autoantibody	7 of 11 cells positive
Warm autoantibody	8 of 11 cells positive

In conclusion, this study demonstrated that the hemagglutination tube method was the best choice for antibody identification, as it missed the fewest number of clinically significant alloantibodies compared with the other two methods. A reference laboratory is responsible for

for determining antibody clinical significance. However, it is beneficial for a reference laboratory to have gel and solid-phase methodologies available for comparison because many referring hospitals use these methods for initial antibody detection. Overall, the tube method was the most reliable

Cada Aloanticuerpo es único.....

	<i>In vitro</i> characteristics of alloanti-C	
	Immunoglobulin class	IgG and IgM
	Optimal technique	IAT; enzymes
	Complement binding	No
	Clinical significance of alloanti-C	
	Transfusion reaction	Mild to severe/immediate or delayed/ hemoglobinuria
	HDN	Mild
	<i>In vitro</i> characteristics of alloanti-K	
	Immunoglobulin class	IgM less common than IgG
	Optimal technique	RT or more usually IAT
	Complement binding	Rare
	Clinical significance of alloanti-K	
	Transfusion reaction	Mild to severe/delayed/hemolytic
	HDN	Mild to severe (rare)
	Comments	
	Some bacteria elicit production of IgM anti-K. Expression of K can be acquired as a result of bacterial activity <i>in vivo</i> and <i>in vitro</i> .	

La clase de inmunoglobulina y el significado clínico de cada especificidad puede variar.

La "regla de oro" de equiparar el significado clínico de un anticuerpo con la especificidad de su antígeno no es universalmente válida

Origin: The Blood Group Antigen Factsbook

CONCLUSIONES

No existe metodología 100% Sensible y 100% específica tanto para la determinación de antígenos eritrocitarios como para la investigación de anticuerpos irregulares

Debido a las diferencias de desempeño entre metodologías, se recomienda utilizar la misma metodología para el escrutinio y la identificación de anticuerpos

La elección del método o métodos a utilizar va a depender de:

- Tipo de muestras a trabajar (donantes, pacientes/gestantes)
- Sensibilidad a anticuerpos de significado clínico
- Numero de muestras a estudiar (automatización)
- Disponibilidad de células con los antígenos más representativos de la población específica

Es conveniente tener implementada más de una metodología en el laboratorio para obtener una investigación más completa y resultados más confiables

GRACIAS
