

---

# GUIA DE SOLUCIÓN DE ERRORES EN EL TAMIZAJE DE HEMOTRANSMISIBLES

Lic. TM. ANDRÉS LARA RODRÍGUEZ  
Hospital "San Bartolomé"

---

# Esquema de investigación en pruebas fallidas

Revisar el procedimiento y determinar si ha habido algún error u omisión en la preparación de muestras y reactivos o en el protocolo

Comprobar la fecha de caducidad de los componentes

Parámetros físicos:

Tiempo de incubación

Temperatura de incubación

Temperatura ambiente

Equipo de laboratorio: Pipetas, lavador, lector

Calidad del agua destilada/desionizada

Preparación y conservación de los reactivos

¿Han funcionado los controles según lo esperado?

¿Estaban los reactivos a temperatura ambiente antes de usar?

---

**Valores de absorbancias bajas  
en controles y muestras**

---

---

<b>Conjugado:</b> Conjugado demasiado diluido Conservar el conjugado diluido más tiempo del permitido. Conjugado inactivo o caducado	<b>Acción:</b> <i>Preparar la dilución correcta</i> <i>Utilizar el conjugado diluido antes de la fecha de vencimiento señalada en el inserto</i>
<b>Muestras:</b> Muestras contaminadas, hemolizadas o lipémicas Muestras no homogenizadas correctamente Muestras inactivadas	<b>Acción:</b> Examinar cuidadosamente el aspecto de las muestras, no inactivarlas por calor.

---

**Sustrato:**

Sustrato preparado demasiado pronto

Sustrato demasiado diluido

Preparación incorrecta

Tampón sustrato demasiado frío

**Acción:**

*Preparar el sustrato con 5-10 minutos de antelación*

*Preparar dilución correcta*

*Dejar que el TMB se disuelva completamente antes de mezclar con el Tampón sustrato. Agitar suavemente la solución preparada como mínimo 10 segundos.*

*Realizar la dilución en un vial completamente limpio.*

*Mezclar cuidadosamente*

*Permitir que el tampón sustrato esté a temperatura ambiente.*

*Retirar el vial de la bandeja de la caja para que se atempere.*

<b>Controles:</b>	<b>Acción:</b>
Control insuficiente o sobre-diluido Mezcla insuficiente de control y diluyente Contaminación cruzada entre controles	<i>Dispensar la cantidad de control necesaria</i> <i>Preparar la dilución correcta de control.</i> <i>Mezclar cuidadosamente</i> <i>Pipetear correctamente, no intercambiar los tapones de los viales</i>

<b>Incubación:</b>	<b>Acción:</b>
Tiempo de incubación corto Temperatura de incubación baja	<i>Respetar el tiempo de incubación</i> <i>Incubar a la temperatura correcta</i>

<b>Lavado:</b>	<b>Acción:</b>
Solución de lavado mal preparada	<i>Preparar la solución de lavado con la dilución correcta</i>
Solución de lavado caducada	<i>Utilizar solución de lavado antes de que caduque</i>
Los pocillos se han dejado secar después del lavado	<i>No dejar secar el pocillo mucho tiempo antes de la siguiente dispensación de reactivo, el contenido de la fase sólida se puede estropear</i>
Remanente de tampón de lavado en los pocillos	<i>Golpear la placa sobre papel absorbente después del lavado</i>
Lavado excesivamente vigoroso	<i>Reducir la presión en el lavador</i>
Aumento de los ciclos de lavado	<i>Respetar los ciclos de lavado</i>

---

<b>Varios:</b>	<b>Acción:</b>
<p>Reactivos caducados</p> <p>Condensación en la bolsa de plástico</p> <p>Micro placa inactiva por conservación incorrecta</p>	<p><i>Comprobar la caducidad del Kit, No utilizar kits caducados</i></p> <p><i>Comprobar que la bolsa desecante funcione correctamente</i></p> <p><i>Escriba la fecha en la que se abrió la bolsa por primera vez</i></p> <p><i>Mantenga siempre las tiras no usadas en la bolsa de plástico con cierre minigrip, bien cerradas y con la bolsita de silicagel</i></p>

---



---

Utilizar componentes de lotes diferentes	<i>No utilizar componentes de otros lotes puesto que están ajustados a cada lote de producción</i>
Filtro de lectura incorrecto	<i>Comprobar que el filtro de lectura utilizado es de 450 nm TMB ó 492 OPD</i>
Temperatura de incubación del sustrato demasiado alta	<i>La peroxidasa del conjugado puede inactivarse a temperatura superiores a los 39°C</i>

---

---

**Valores de absorbancias altas  
en los controles y muestras**

---

---

**Controles:**

Contaminación de los pocillos de control negativo por el control positivo

Volumen de control mayor por error de dispensación

Control demasiado concentrado

**Acción:**

*Durante el lavado, no permitir el desbordamiento de los pocillos*

*Dispensar la cantidad de control correcta*

*Preparar la dilución correcta de control.*

*Mezclar cuidadosamente*

---

---

<b>Incubación:</b>	<b>Acción:</b>
Tiempo de incubación largo	<i>Respetar el tiempo de incubación</i>
Temperatura de incubación alta	<i>Incubar a la temperatura correcta según las instrucciones</i>

<b>Varios:</b>	<b>Acción:</b>
Volumen insuficiente de solución de parada	<i>Dispensar el volumen correcto</i>

---

---

<b>Muestras:</b>	<b>Acción:</b>
Dispensación excesiva de muestra en los pocillos	<i>Dispensar el volumen de muestra correcto</i>
Dilución incorrecta de las muestras o presencia de fibrina en ellas	<i>Preparar la dilución correcta Centrifugar x 10' a 3500 rpm</i>
<b>Conjugado:</b>	<b>Acción:</b>
Conjugado excesivamente concentrado	<i>Preparar dilución correcta</i>
Conjugado contaminado	<i>Comprobar la contaminación, aspecto turbio</i>

---





---

<b>Sustrato:</b>	<b>Acción:</b>
TMB u OPD excesivamente concentrado	<i>Preparar dilución correcta</i>
Sustrato contaminado u oxidado	<i>Comprobar que el sustrato es transparente antes de dispensar. Rechazar si está coloreado de azul (TMB) o naranja (OPD)</i>

---





<b>Lavado:</b>	<b>Acción:</b>
Solución de lavado mal preparada	<i>Preparar la solución de lavado con la dilución correcta</i>
Sistema de lavado contaminado	<i>Limpiar el sistema de lavado. Realizar una purga con agua destilada al finalizar el ensayo</i>
Poco vacío en el sistema de lavado	<i>Comprobar que el sistema de lavado seque correctamente el pocillo</i>
No respetar tiempo de remojo	<i>Dejar un tiempo de remojo entre cada ciclo de lavado</i>
Volumen de llenado del pocillo y/o aspiración insuficiente o no uniforme	<i>Comprobar el lavador. Llenar los pocillo hasta casi el borde sin menisco. Aspirar el contenido completamente.</i>

---

Demasiada presión en el peine de dispensación produciendo espuma	<i>Reducir la presión puesto que la espuma producida es difícil de eliminar</i>
Insuficiente número de ciclos de lavado	<i>Respetar el número de ciclos de lavado según inserto</i>
Solución de lavado de trabajo (1x) contaminada	<i>Comprobar la calidad del agua desionizada utilizada para diluir el tampón.</i>
Utilizar el tampón de lavado de otro fabricante	<i>Utilizar sólo el tampón de lavado suministrado por el fabricante.</i>

---

---

**Elevado número de muestras  
reactivas iniciales**

---

---

<b>Muestras:</b>	<b>Acción:</b>
<p>Dispensación excesiva de muestra en los pocillos</p> <p>Contaminación cruzada con muestras positivas fuertes</p> <p>Muestras recién sacadas de refrigeración</p>	<p><i>Dispensar el volumen de muestra correcto. En los ensayos IPD no introducir la punta de la pipeta en el tubo primario, más de lo necesario: La cantidad de muestra en la parte exterior de la punta se suma al volumen total dispensado</i></p> <p><i>Comprobar la calidad de las puntas así como el lavador de micro placas</i></p>

---



---

Mezcla insuficiente entre el diluyente de muestra y las muestras, especialmente en los ensayos con dilución en placa (IPD)

*Asegúrese que existe una mezcla correcta, agitando ligeramente la placa 10-15 segundos antes de la incubación de la muestra. El diluyente de muestra contiene proteínas que bloquean los interfirientes*

Dilución incorrecta de las muestras

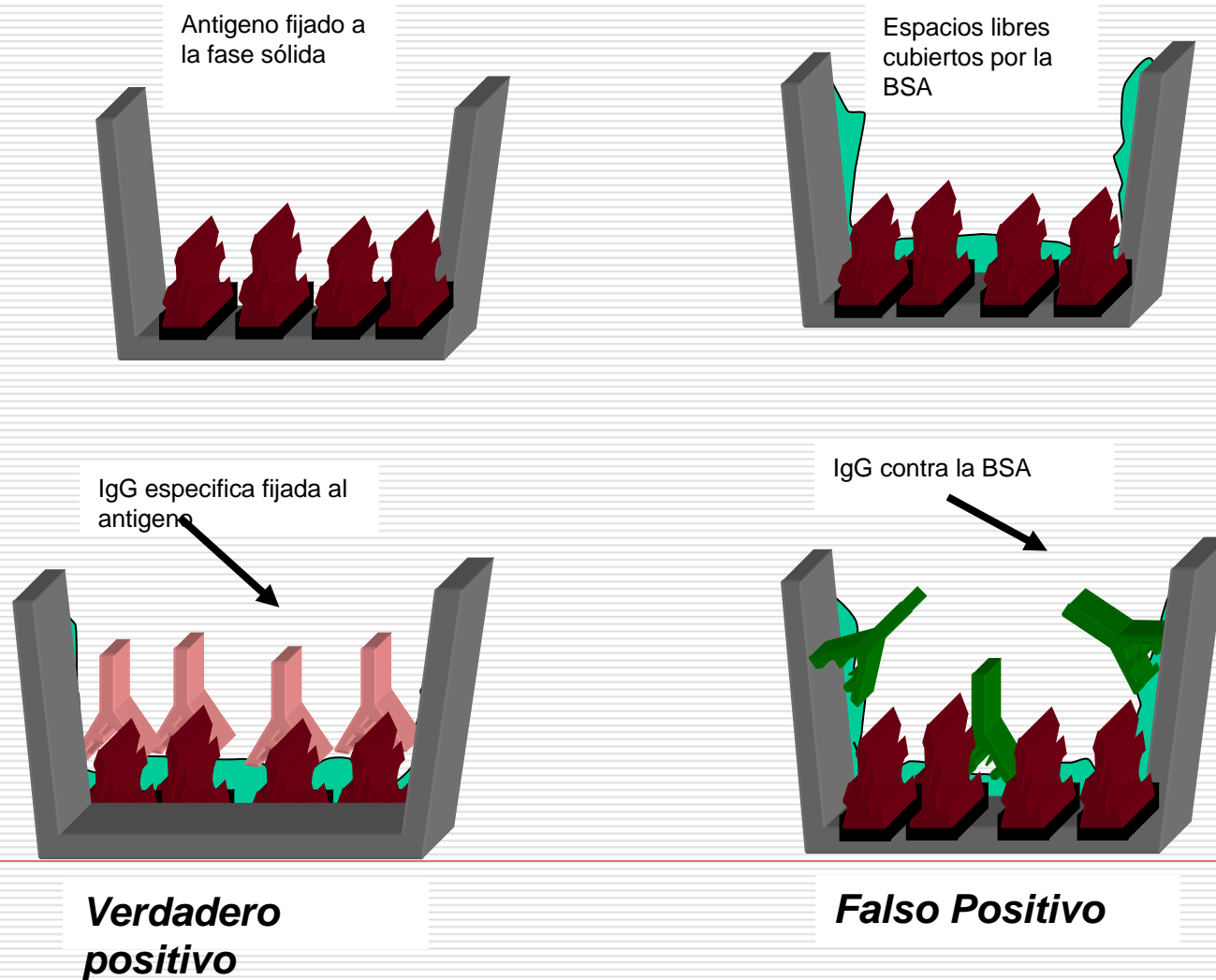
*Preparar la dilución correcta*

Hematías, hemólisis o restos de fibrina en las muestras

*Centrifugar las muestras antes de ser utilizadas*

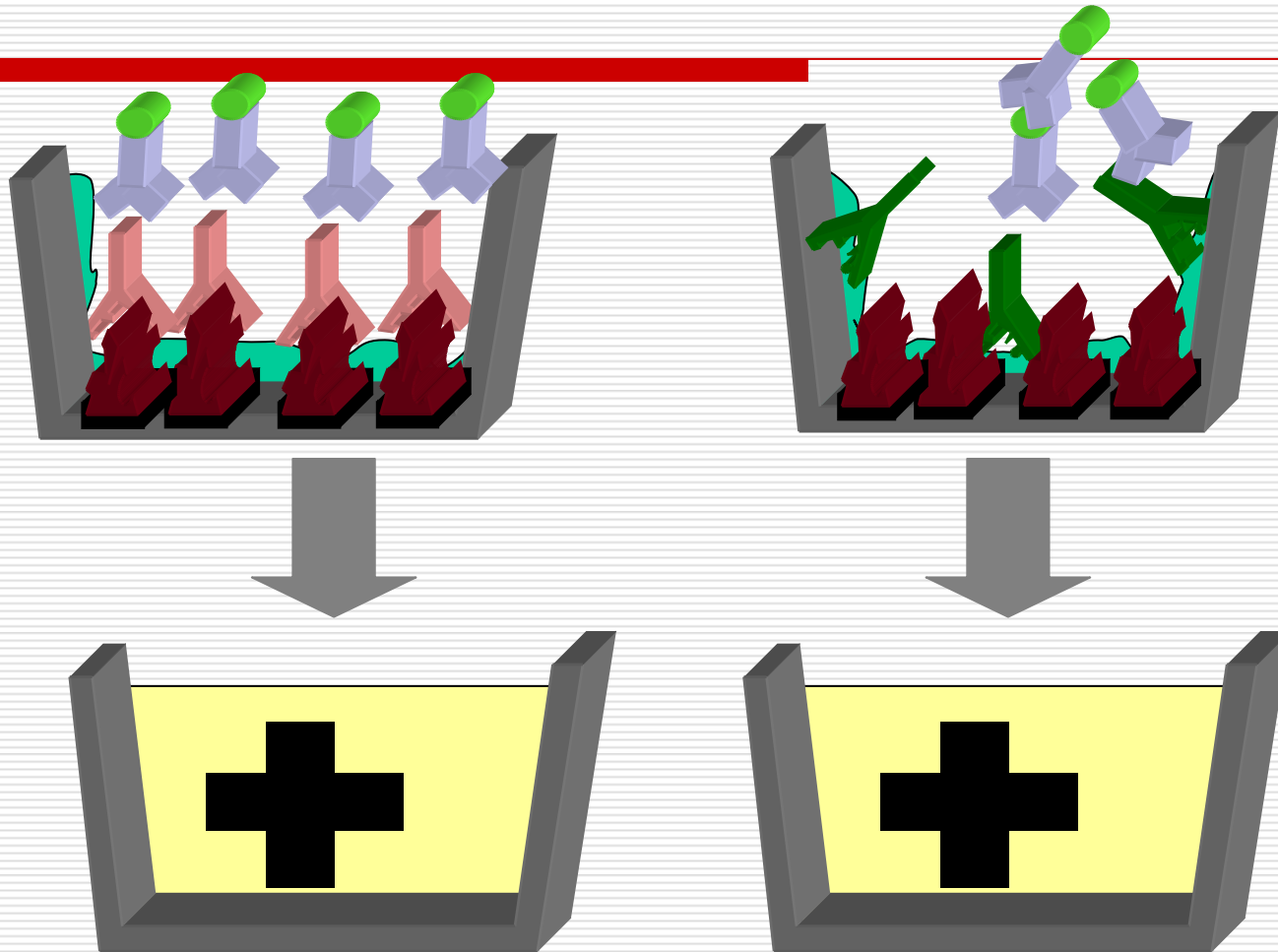
---

# POR QUE FALSOS POSITIVOS?





# POR QUE FALSOS POSITIVOS?



---

<b>Lavado:</b>	<b>Acción:</b>
Solución de lavado mal preparada	<i>Preparar la solución de lavado con la dilución correcta</i>
Sistema de lavado contaminado	<i>Limpiar el sistema de lavado. Realizar una purga con agua destilada al finalizar el ensayo</i>
Poco vacío en el sistema de lavado	<i>Comprobar que el sistema de lavado seque correctamente el pocillo</i>
No respetar tiempo de remojo	<i>Dejar un tiempo de remojo entre cada ciclo de lavado</i>

---

Volumen de llenado del pocillo y/o aspiración insuficiente o no uniforme	<i>Comprobar el lavador. Llenar los pocillo hasta casi el borde sin menisco o menisco negativo Aspirar todo el contenido</i>
Demasiada presión en el peine del lavador Produciendo espuma	<i>Reducir la presión puesto que la espuma producida es difícil de eliminar</i>
Insuficiente número de ciclos de lavado	<i>Respetar el número de ciclos de lavado según inserto</i>
Uso de solución de lavado de otro fabricante	<i>Utilizar la solución de lavado incluida en el kit</i>
Solución de lavado de trabajo contaminada	<i>Comprobar la calidad del agua desionizada utilizada para diluir el tampón.</i>

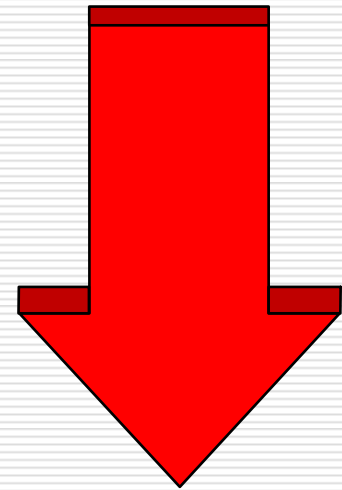
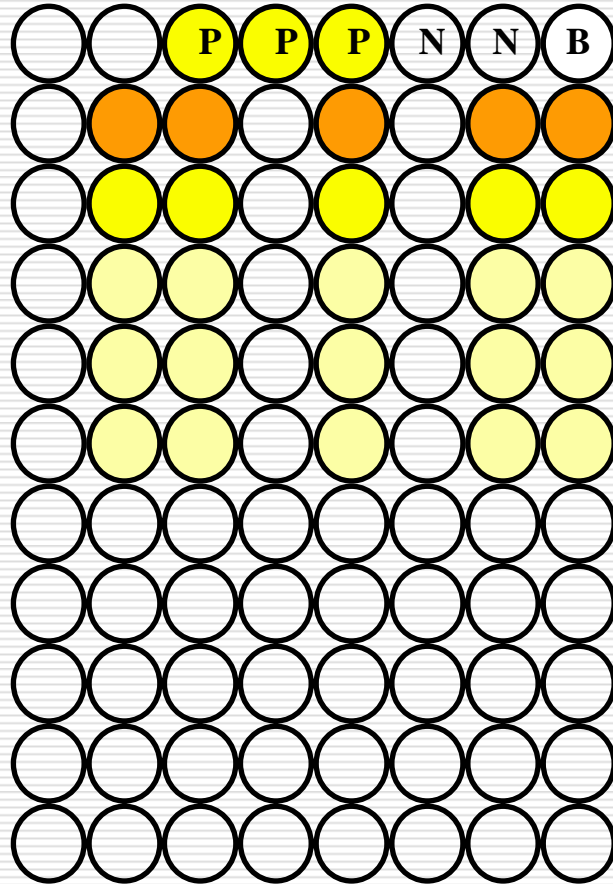
---

**Pobre reproducibilidad  
de lectura de las  
muestras**

---

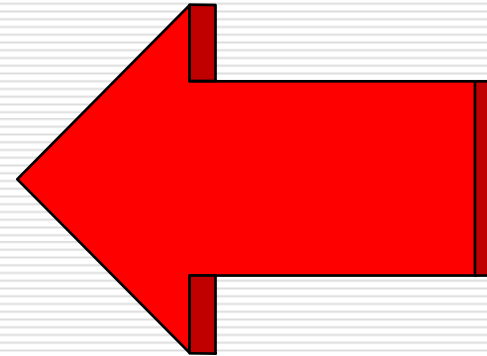
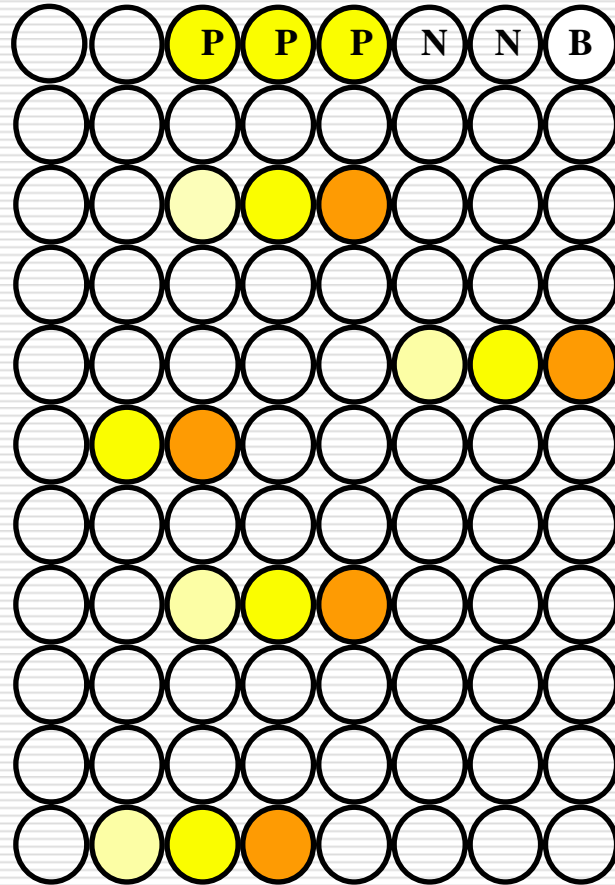
<b>Muestras:</b>	<b>Acción:</b>
Técnica de dispensación deficiente.	<i>Recalibrar las pipetas y dispensar el volumen correcto. Mejorar técnica</i>
Contaminación cruzada con muestras positivas fuertes	<i>Comprobar las puntas y/o el sistema del dispensador de muestras y el lavador</i>
<b>Lavado:</b>	<b>Acción:</b>
Preparación incorrecta de la solución de lavado	<i>Preparar la solución de lavado correctamente</i>
Los pocillos se han dejado secar demasiado, antes de dispensar el siguiente reactivo	<i>No dejar que los pocillos se sequen excesivamente</i>
Cambio en la calidad del agua destilada/desionizada	<i>Comprobar la calidad del agua</i>
Peine de lavado contaminado	<i>Mantener el peine de lavado en buenas condiciones</i>

# Arrastre debido al lavado



# Contaminación cruzada por arrastre

---





Lavador de placas de 96 pocillos



---

**Sin color en los pocillos al  
final del ensayo**

---

---

<b>Controles:</b>	<b>Acción:</b>
Control positivo no dispensado o poco volumen	<i>Dispense el control positivo</i>
Preparación incorrecta del control positivo	<i>Prepare correctamente el control positivo</i>
<b>Conjugado:</b>	<b>Acción:</b>
Error en la preparación Conjugado o no dispensado o confusión de conjugado	<i>Prepare la dilución correcta No olvide de dispensar el conjugado</i>
Conservación incorrecta Confusión de los pocillos	<i>Conservar el conjugado en condiciones correctas</i>

---

<b>Sustrato:</b>	<b>Acción:</b>
Error en la preparación	<i>Prepare la dilución correcta</i>
Dispensación de solución de parada, en lugar del tampón sustrato	<i>Compruebe que el TMB se dispensó correctamente</i>
Solución de parada dispensada demasiado pronto	<i>Incubar el sustrato el tiempo necesario</i>
Sustrato no dispensado	<i>No olvide de dispensar el sustrato</i>
Incubación muy corta de sustrato Solución de lavado mal preparada	<i>Incube el sustrato el tiempo necesario Preparar la dilución correcta</i>

---

**Absorbancia del blanco  
muy alta**

---

<b>Sustrato:</b>	<b>Acción:</b>
Sustrato contaminado u oxidado	<p><i>Compruebe que el sustrato es incoloro.</i></p> <p><i>Valores máximos esperados para el blanco si no se utiliza filtro de referencia::</i></p> <p><i><math>OD_{450 \text{ o } 490} &lt; 0.100</math></i></p> <p><i>Si se utiliza filtro de referencia:</i></p> <p><i><math>OD_{450 \text{ ó } 490/620} &lt; 0.050</math></i></p>
<b>Conjugado:</b>	<b>Acción:</b>
Se dispensó conjugado en el pocillo del blanco	<p><i>Dispense sólo sustrato y solución de parada en el blanco</i></p>

---

**Absorbancias incongruentes en  
una placa visualmente correcta**

---

<b>Lector:</b>	<b>Acción:</b>
Filtro de lectura incorrecto	<i>Compruebe que la longitud de onda del filtro utilizado es el recomendado en el inserto. Si no se utiliza filtro de referencia de 620 nm la absorbancia aumenta aproximadamente en 50 milinunidades.</i>
Filtro de referencia incorrecto	<i>Utilice sólo el filtro de 620 nm</i>
Interferencias en el camino óptico	<i>Compruebe el lector de micro Elisa. Limpie o seque la parte inferior de los pocillos. Compruebe la ausencia de burbujas de aire Repita la lectura.</i>



Lector de placas de 96 pocillos



---

Para Recordar:

TODOS LOS DIAS SIEMPRE HAY  
ALGO NUEVO QUE APRENDER

---

---

**MUCHAS GRACIAS POR SU ATENCIÓN**

[andres\\_2802@hotmail.com](mailto:andres_2802@hotmail.com)

---