

REACTIVO MONOCLONAL PARA LA DETERMINACIÓN DE GRUPOS SANGUÍNEOS INSTRUCCIONES DE USO

Anti-C+D+E Monoclonal: Para técnicas en tubo, Bio-Rad-ID, Ortho BioVue, microplaca y portaobjetos.

RESUMEN

En 1940, Levine y Stetson descubrieron el sistema del grupo sanguíneo Rh. Además del antígeno D, los otros antígenos principales de Rh son C, E, c y e. El antígeno D es altamente inmunogénico. Los antígenos C y e son menos inmunogénicos que E y c. Los anticuerpos correspondientes son todos clínicamente significativos dado que estos antígenos pueden causar tanto reacciones transfusionales como enfermedad hemolítica del recién nacido.

USO PREVISTO

El reactivo se utiliza para la determinación de grupos sanguíneos y tiene la finalidad de comprobar cualitativamente la presencia o ausencia del antígeno C (RH2) y/o D (RH1) y/o E (RH3) en los hematíes de donantes de sangre o pacientes que requieren una transfusión de sangre cuando se evalúan de conformidad con las técnicas recomendadas establecidas en estas instrucciones de uso.

PRINCIPIO

El reactivo contiene anticuerpos contra los antígenos C, D y E en los hematíes humanos y provocará una aglutinación (agrupación) directa de los hematíes humanos que lleven los antígenos C y/o D y/o E. La ausencia de aglutinación (ausencia de agrupación) indica en general la ausencia del antígeno Rh correspondiente (ver **Limitaciones**).

REACTIVOS

Los reactivos Lorne Monoclonal IgM Anti-Rh para la determinación de grupos sanguíneos son reactivos escasamente proteicos que contienen anticuerpos monoclonales humanos diluidos con cloruro sódico, albúmina bovina y potenciadores macromoleculares (4,0 g %). Los reactivos no contienen ni están compuestos de sustancias CMR o sustancias que alteran el funcionamiento del sistema endócrino o que podrían causar sensibilización o una reacción alérgica al usuario. Cada reactivo se suministra en la dilución óptima para su utilización en todas las técnicas aquí recomendadas sin necesidad de diluciones o adiciones suplementarias. Para obtener información sobre el número de referencia del lote y la fecha de caducidad, consulte la **etiqueta del vial**.

Reactivo	Línea Celular/Clon
Anti-C+D+E	MS-24 + RUM-1 + MS-258

CONSERVACIÓN

Los viales de reactivo deben ser conservados a 2-8°C. El almacenamiento prolongado a temperaturas fuera de este rango puede acelerar la pérdida de reactividad. Este reactivo se ha sometido a estudios de estabilidad durante el traslado a 37°C y -25°C, según lo descrito en el documento BS EN ISO 23640:2015.

OBTENCIÓN DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Las muestras pueden recogerse en anticoagulantes EDTA, citrato, CPDA o como una muestra coagulada. Las muestras deben analizarse cuanto antes después de su recolección. Si el análisis va a retrasarse, la muestra debe conservarse a 2-8°C. No deben analizarse las muestras que exhiban una hemólisis macroscópica o contaminación microbiana. Las muestras de sangre que muestren evidencias de lisis pueden dar lugar a resultados no fiables. Es preferible (pero, no esencial) lavar todas las muestras de sangre con PBS o solución salina isotónica antes de realizar el análisis.

PRECAUCIONES

- Los reactivos son solo para uso en diagnóstico *in vitro*.
- Si el vial del reactivo está roto o agrietado, descartar inmediatamente su contenido.
- No utilizar reactivos caducados (ver la **etiqueta del vial**).
- No utilizar reactivos que presenten precipitados.
- La manipulación de los reactivos debe realizarse con la apropiada indumentaria de protección, tales como guantes desechables y bata de laboratorio.
- Los reactivos han sido filtrados a través de cápsulas de 0,2 µm para reducir la carga biológica, pero no se suministran esterilizados. Una vez abierto el vial, el contenido debe permanecer viable hasta la fecha de caducidad, siempre y cuando no haya una marcada turbidez, lo que podría indicar un deterioro o contaminación del reactivo.
- Los reactivos contienen < 0,1 % de azida sódica. La azida sódica puede ser tóxica si se ingiere y puede reaccionar con el cobre o plomo de las tuberías y formar azidas metálicas explosivas. Al eliminar el producto, hacerlo con abundante agua.
- Los materiales utilizados para producir los productos se probaron en origen y se determinó que son negativos para los anticuerpos contra el VIH 1 + 2 y el VHC y el HBsAg mediante el uso de pruebas microbiológicas aprobadas.
- Ningún método puede garantizar que los productos derivados de fuentes humanas o animales estén libres de agentes infecciosos. Manipular y desechar con precaución los viales y su contenido.

ELIMINACIÓN DEL PRODUCTO Y MANEJO DE DERRAMES

Para obtener información sobre la eliminación del reactivo y la descontaminación del lugar del derrame, consulte las **Hojas de datos de seguridad de los materiales**, disponibles previa solicitud.

CONTROLES Y CONSEJOS

- Se recomienda la utilización de un control positivo (idealmente un heterocigoto) y un control negativo para estudiar de forma paralela en cada lote de análisis. Los análisis deben considerarse no válidos si los controles no muestran los resultados esperados.
- Durante la tipificación de hematíes de un paciente, es importante que se incluya un control negativo del reactivo (Mono Rh Control, n.º de catálogo de Lorne 640010) debido a que los potenciadores macromoleculares del reactivo pueden causar reacciones falsas positivas en las células recubiertas con IgG.
- Las técnicas en tarjetas de gel, placas de microtítulo y portaobjetos pueden no detectar de manera eficaz los antígenos Rhesus débiles. Se recomienda que los antígenos Rhesus débiles se estudien con la técnica de la prueba en tubo.
- Antes de su uso, deje que el reactivo adquiera la temperatura ambiente. Ni bien se haya utilizado el reactivo, volver a almacenarlo a 2-8°C.
- En las **técnicas recomendadas**, un volumen equivale aproximadamente a 50 µl cuando se utiliza el gotero suministrado.
- La utilización de los reactivos y la interpretación de los resultados deben llevarse a cabo por personal cualificado y formado de acuerdo a los requisitos del país donde se estén utilizando los reactivos.
- El usuario debe determinar la idoneidad de los reactivos para su uso en otras técnicas.

REACTIVOS Y MATERIALES NECESARIOS, PERO NO SUMINISTRADOS

Técnica en tubo

- Tubos de ensayo (10 x 75 mm o 12 x 75 mm).
- Centrífuga que pueda girar a 1000 g durante 20 segundos.
- Solución tampón fosfato salino (PBS) (pH 6,8-7,2) o solución salina isotónica (pH 6,5-7,5).
- Hematíes para controles positivo (idealmente R₁r) y negativo (rr).

Técnica de micro tipificación en Bio-Rad-ID

- Tarjetas ID Bio-Rad (NaCl, ensayo enzimático y aglutininas frías).
- Centrífuga Bio-Rad ID.
- Bio-Rad ID-CellStab o ID-Diluent 2.

Técnica de tipificación en Ortho Biovue

- Casetes del sistema Ortho BioVue (Neutros).
- Centrífuga del sistema Ortho BioVue.
- Diluyente de hematíes Ortho 0,8 %.

Técnica en placa de microtítulo

- Placas de microtítulo de pocillos "U" validadas.
- Centrífuga para placas microtítulo.
- Agitador para placas microtítulo.

Técnica en portaobjetos

- Portaobjetos de vidrio para microscopio o tarjetas blancas.
- Varillas para aplicación.
- Temporizador o cronómetro.

Todas las técnicas

- Pipetas volumétricas.

TÉCNICAS RECOMENDADAS

A. Técnica en tubo

- Preparar una suspensión de hematíes al 2-3% en PBS o solución salina isotónica.
- Añadir en un tubo etiquetado: 1 volumen de reactivo Lorne Anti-Rh y 1 volumen de la suspensión de hematíes.
- Mezclar minuciosamente y centrifugar todos los tubos durante 20 segundos a 1000 rcf o a una fuerza y tiempo alternativos adecuados.
- Volver a suspender cuidadosamente el botón celular y realizar un examen macroscópico para comprobar si hay aglutinación.
- Cualquier tubo que muestre un resultado negativo o cuestionable, debe ser incubado durante 15 minutos a temperatura ambiente.
- Tras la incubación, repetir los pasos 3 y 4.

B. Técnica en Bio-Rad ID (tarjetas NaCl, ensayo enzimático y aglutininas frías)

1. Preparar una suspensión de hematíes al 0,8 % en ID-CellStab o ID-Diluent 2.
2. Retirar el papel de aluminio de los microtubos necesarios de una tarjeta ID NaCl, ensayo enzimático y aglutininas frías.
3. Añadir en el microtubo correspondiente: 50 µl de la suspensión de hematíes y 25 µl del reactivo Lorne Anti-Rh.
4. Centrifugar la(s) tarjeta(s) ID en la centrífuga Bio-Rad ID.
5. Realizar un examen macroscópico para comprobar si hay aglutinación.

C. Técnica en Ortho BioVue (casetes neutros)

1. Preparar una suspensión de hematíes al 0,8 % en diluyente de hematíes Ortho 0,8 %.
2. Retirar el papel de aluminio de las cámaras de reacción necesarias de un casete neutro.
3. Añadir en la cámara de reacción correspondiente: 50 µl de la suspensión de hematíes y 40 µl del reactivo Lorne Anti-Rh.
4. Centrifugar el/los casete(s) durante 5 minutos en una centrífuga del sistema Ortho BioVue.
5. Realizar un examen macroscópico para comprobar si hay aglutinación.

D. Técnica en placa de microtítulo con pocillos "U"

1. Preparar una suspensión de hematíes al 2-3% en PBS o solución salina isotónica.
2. Añadir en el pocillo correspondiente: 1 volumen de reactivo Lorne Anti-Rh y 1 volumen de la suspensión de hematíes.
3. Mezclar minuciosamente, preferiblemente con un agitador para microplacas, cuidando de evitar cualquier contaminación cruzada.
4. Incubar a temperatura ambiente durante 15 minutos (tiempo en función del usuario).
5. Centrifugar la microplaca durante 1 minuto a 140 rcf o a una fuerza y tiempo alternativos adecuados.
6. Volver a suspender los botones celulares mediante una agitación cuidadosamente controlada en un agitador para microplacas.
7. Leer macroscópicamente o con un lector automático validado.
8. Cualquier reacción débil debe ser repetida con la técnica en tubo.

E. Técnica en portaobjetos

1. Preparar una suspensión de hematíes al 35-45 % en suero, plasma, PBS o solución salina isotónica. Si esto no es posible, también puede utilizarse sangre total anticoagulada como muestra.
2. Colocar en un portaobjetos de vidrio o tarjeta etiquetado/a: 1 volumen de reactivo Lorne Anti-Rh y 1 volumen de la suspensión de hematíes.
3. Mezclar el reactivo y las células con una varilla limpia en un área de unos 20 x 40 mm.
4. Inclinar lentamente el portaobjetos de atrás a delante durante 1 minuto, manteniendo el portaobjetos a temperatura ambiente.
5. Realizar un examen macroscópico luego de 1 minuto sobre una luz difusa y no confundir las fibras de fibrina con la aglutinación.
6. Cualquier reacción débil debe ser repetida con la técnica en tubo.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS

1. **Positivo:** La aglutinación constituye un resultado positivo y, dentro de las limitaciones aceptadas para el procedimiento del análisis, indica la presencia del antígeno Rh correspondiente en los hematíes.
2. **Negativo:** La ausencia de aglutinación constituye un resultado negativo y, dentro de las limitaciones aceptadas para el procedimiento del análisis, indica la ausencia del antígeno Rh correspondiente en los hematíes.
3. **Control:** Se deben excluir los resultados de las pruebas de células que se aglutinen con el control negativo del reactivo, ya que la aglutinación más probablemente es causada por el efecto de los potenciadores macromoleculares del reactivo en células sensibilizadas.

ESTABILIDAD DE LAS REACCIONES

1. Leer los análisis realizados en microplacas y tubos inmediatamente tras la centrifugación.
2. Los análisis en portaobjetos deben interpretarse dentro de 1 minuto a fin de garantizar la especificidad y evitar la posibilidad de que un resultado negativo se interprete incorrectamente como positivo debido al secado del reactivo.
3. Los resultados de los análisis realizados a temperaturas distintas de las aquí recomendadas deben ser interpretados con cautela.

LIMITACIONES

1. Los reactivos Lorne Anti-Rh no son adecuados para su utilización con células tratadas enzimáticamente o en técnicas de antiglobulina indirecta.
2. Algunos hematíes expresan variantes de antígenos Rh y pueden dar lugar a reacciones más débiles de las observadas en células de control positivas seleccionadas aleatoriamente. Anti-C puede generar reacciones más débiles con el antígeno C de individuos R₂R₂. De forma similar, Anti-e puede provocar reacciones sensiblemente más débiles en ausencia del antígeno C, p. ej., R₂r, r^r y rr.
3. La supresión o disminución de la expresión de ciertos antígenos de grupos sanguíneos puede, inversamente, dar lugar a reacciones falsas negativas. Por estos motivos, debe realizarse con cautela la asignación de genotipos en base a los resultados del análisis.
4. También pueden darse resultados falsos positivos o falsos negativos debido a:
 - Contaminación de los materiales del análisis
 - Conservación, concentración celular, tiempo o temperatura de incubación inadecuados
 - Centrifugación inadecuada o excesiva

- Desviación de las técnicas recomendadas

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO ESPECÍFICAS

1. Antes de su liberación, cada lote de este reactivo se evalúa con los métodos de pruebas recomendados descritos en estas instrucciones de uso. Los análisis cumplen con los requisitos de pruebas, según se describen en la versión/edición actual de las "Guías para los Servicios de transfusión de sangre del Reino Unido".
2. La especificidad en origen de los anticuerpos monoclonales está demostrada frente a un panel de hematíes antígenos-negativo.
3. El control de calidad del reactivo se llevó a cabo mediante el uso de hematíes con fenotipos que fueron verificados por un centro de transfusión de sangre del RU y que fueron lavados en PBS o solución salina isotónica antes de su uso.

DESCARGO DE RESPONSABILIDAD

1. El usuario es responsable del funcionamiento de los reactivos en cualquier otro método distinto de los mencionados como **técnicas recomendadas**.
2. Cualquier desviación de las **técnicas recomendadas** debe validarse antes de su uso⁵.

BIBLIOGRAFÍA

1. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition, Montgomery Scientific, Miami, 1985, Chapter 10.
2. AABB Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
3. Jones J, Scott ML, Voak D. Monoclonal anti-D specificity and Rh D structure: criteria for selection of monoclonal anti-D reagents for routine typing of patients and donors. Transfusion Medicine 1995, 5, 171-184
4. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6th Edition 2002. The Stationary Office.
5. British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force. Recommendations for evaluation, validation and implementation of new techniques for blood grouping, antibody screening and cross matching. Transfusion Medicine, 1995, 5, 145-150.

TAMAÑOS DE REACTIVOS DISPONIBLES

	Tamaño del vial	Número de catálogo	Pruebas por vial
Anti-C+D+E Monoclonal	10 ml	700010	200
	1000 ml	700000*	20.000

*Este tamaño es solo para fabricación posterior (FFMU) y, por lo tanto, no cuenta con el marcado CE.



Lorne Laboratories Limited

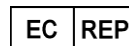
Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate
Danehill

Lower Earley
Berkshire, RG6 4UT
Reino Unido

Tel: +44 (0) 118 921 2264

Fax: +44 (0) 118 986 4518

Correo electrónico: info@lornelabs.com



Advena Ltd. Tower Business Centre, 2nd Flr.,
Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta