LORNE LABORATORIES LTD.
GRAN BRETAÑA

CE 1434

REACTIVO DE GLOBULINA ANTIHUMANA MONOESPECÍFICA (CONEJO)
INSTRUCCIONES DE USO

Anti-Human IgG (transparente o verde): Para técnicas de antiglobulina.

RESUMEN

En 1945, Coombs, Mourant y Race describieron el uso del suero de globulina antihumana para detectar anticuerpos no aglutinantes unidos a hematíes.

USO PREVISTO

Estos son reactivos monoespecíficos utilizados para la determinación de grupos sanguíneos que tienen la finalidad de comprobar cualitativamente la presencia o ausencia de los anticuerpos IgG sensibilizantes (las 4 subclases) en los hematíes humanos cuando se evalúan de conformidad con las técnicas recomendadas establecidas en estas instrucciones de uso.

PRINCIPIO

Los reactivos contienen anticuerpos contra los anticuerpos IgG humanos en los hematíes humanos y provocarán una aglutinación (agrupación) directa de los hematíes que son sensibilizados con los anticuerpos IgG humanos. La ausencia de aglutinación indica en general la ausencia de los anticuerpos IgG humanos en los hematíes humanos (ver **Limitaciones**).

REACTIVOS

Los reactivos Lorne Monospecific Anti-Human IgG Clear y Anti-Human IgG Green contienen derivados anti-IgG de conejos. Toda la actividad no específica se elimina por absorción. 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. Los reactivos se suministran 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	Color	Colorante
Anti-Human IgG Clear	IgG antihumana de conejo	Incoloro	Ninguno
Anti-Human IgG Green	IgG antihumana de conejo	Verde	Azul patentado y tartracina

CONSERVACIÓN

Los viales de reactivo deben ser conservados a 2-8ºC en cuanto se reciban. 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 37ºC y –25ºC, según lo descrito en el documento EN13640:2002.

OBTENCIÓN DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Las muestras se deben aspirar asépticamente en EDTA y estudiarse lo antes posible. Si EDTA no está disponible, las muestras en ACD, CPD o CPDA-1 son preferibles a los coagulados. Si solo las muestras coaguladas están disponibles, no refrigerarlas antes de la prueba. Todas las muestras de sangre deben lavarse al menos dos veces con PBS o solución salina isotónica antes de realizar el análisis.

PRECAUCIONES

1. Los reactivos son solo para uso en diagnóstico *in vitro*.
2. Si el vial del reactivo está roto o agrietado, descartar inmediatamente su contenido.
3. No utilizar reactivos caducados (ver la **etiqueta del vial**).
4. No utilizar reactivos que presenten precipitados.
5. La manipulación de los reactivos debe realizarse con la apropiada indumentaria de protección, tales como guantes desechables y bata de laboratorio.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. 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 de los reactivos y la descontaminación del lugar del derrame, consulte las **Hojas de datos de seguridad de los materiales**, disponibles previa solicitud.

CONTROLES Y CONSEJOS

1. Debería utilizarse un control positivo (Anti-D débil < 0,1 UI/ml) y un control negativo (un suero inerte) para estudiar de forma paralela en cada lote de análisis. Los análisis deben considerarse no válidos si los controles no muestran los resultados esperados.
2. Las técnicas de antiglobulina solo pueden considerarse válidas si todas las pruebas negativas reaccionan de manera positiva con hematíes sensibilizados con IgG.
3. Antes de su uso, deje que el reactivo adquiera la temperatura ambiente. Ni bien se haya utilizado el reactivo, volver a almacenarlo a 2-8ºC.
4. En las **técnicas recomendadas,** un volumen equivale aproximadamente a 50 µl cuando se utiliza el gotero suministrado.
5. 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.
6. El usuario debe determinar la idoneidad de los reactivos para su uso en otras técnicas.

REACTIVOS Y MATERIALES NECESARIOS, PERO NO SUMINISTRADOS

- Lavador de células de Coombs.
- Tubos de ensayo (10 x 75 mm o 12 x 75 mm).
- Hematíes sensibilizados con IgG; es decir, Lorne Coombs Control Cells (n.º de cat. 970010).
- Anticuerpo inerte; es decir, Lorne Inert AB Serum (n.º de cat. 110010).
- Solución de baja fuerza iónica (LISS): que contenga NaCl 0,03 M, 0,003 M Na_2HPO_4: NaH_2PO_4 tampón pH 6,7 a 22ºC ± 1ºC y glicina 0,24 M.
- Solución tampón fosfato salino (PBS) (pH 6,8-7,2) o solución salina isotónica (pH 6,5-7,5).
- Pipetas volumétricas.
- Baño de agua o incubadora de calor seco equilibrada a 37ºC ± 2ºC.
- Anti-D débil; es decir, Lorne Precise Weak Anti-D (n.º de cat. 209005).

TÉCNICAS RECOMENDADAS

A. Técnica de antiglobulina directa (DAT)

1. Lavar los hematíes de prueba 4 veces con PBS o solución salina isotónica, teniendo cuidado de decantar la solución salina entre lavados y volver a suspender los botones celulares después de cada lavado. Decantar completamente la solución salina después del último lavado.
2. Añadir 2 volúmenes de Lorne Anti-IgG a cada botón celular seco.
3. Mezclar minuciosamente y centrifugar todos los tubos durante 20 segundos a 1000 rcf o a una fuerza y tiempo alternativos adecuados.
4. Volver a suspender cuidadosamente el botón celular y realizar un examen macroscópico para comprobar si hay aglutinación.

B. Técnica de antiglobulina indirecta (NISS IAT)

1. Preparar una suspensión del 2-3 % de hematíes de prueba lavados en PBS o solución salina isotónica.
2. Añadir en un tubo etiquetado: 2 volúmenes de suero de prueba y 1 volumen de la suspensión de hematíes de prueba.
3. Mezclar minuciosamente e incubar a 37ºC durante 15 minutos.
4. Lavar los hematíes de prueba 4 veces con PBS o solución salina isotónica, teniendo cuidado de decantar la solución salina entre lavados y volver a suspender los botones de hematíes después de cada lavado. Decantar completamente la solución salina después del último lavado.
5. Añadir 2 volúmenes de Lorne Anti-IgG a cada botón celular seco.
6. Mezclar minuciosamente y centrifugar todos los tubos durante 20 segundos a 1000 rcf o a una fuerza y tiempo alternativos adecuados.
7. Volver a suspender cuidadosamente el botón celular y realizar un examen macroscópico para comprobar si hay aglutinación.

C. Técnica de antiglobulina indirecta LISS (LISS IAT)

1. Preparar una suspensión del 1,5-2 % de hematíes de prueba lavados en LISS.
2. Añadir en un tubo etiquetado: 2 volúmenes de suero de prueba y 2 volúmenes de la suspensión de hematíes de prueba.
3. Mezclar minuciosamente e incubar a 37ºC durante 15 minutos.
4. Seguir los pasos 4 a 7 de **NISS IAT** descritos anteriormente.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS

1. **Positivo:** La aglutinación de los hematíes de prueba constituye un resultado positivo y, dentro de las limitaciones aceptadas para el procedimiento del análisis, indica la presencia de IgG en los hematíes de prueba.
2. **Negativo:** La ausencia de aglutinación de los hematíes de prueba constituye un resultado negativo y, dentro de las limitaciones aceptadas para el procedimiento del análisis, indica la ausencia de IgG en los hematíes de prueba.

ESTABILIDAD DE LAS REACCIONES

1. Los pasos de lavado deben completarse sin interrupción, y las pruebas deben centrifugarse y leerse inmediatamente después de la adición del reactivo. Los retrasos pueden suponer la disociación de los complejos antígeno-anticuerpo, lo que provoca resultados falsos negativos o positivos débiles.
2. Los resultados de los análisis realizados a temperaturas distintas de las aquí **recomendadas** deben ser interpretados con cautela.

LIMITACIONES

1. Los hematíes que tengan un resultado positivo en la DAT debido a un recubrimiento de IgG no se pueden tipificar por las **técnicas de antiglobulina indirecta**.
2. El lavado inadecuado de los hematíes en la técnica de antiglobulina indirecta puede neutralizar el reactivo de globulina antihumana.
3. Un resultado positivo en la DAT debido a la sensibilización del complemento puede no reflejar fijación *in vivo* del complemento si los hematíes de prueba son de una muestra coagulada refrigerada.
4. Un resultado negativo en la prueba de la antiglobulina directa no excluye necesariamente un diagnóstico clínico de enfermedad hemolítica del recién nacido por incompatibilidad ABO o anemia hemolítica autoinmunitaria. Tampoco excluye necesariamente enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN), especialmente si se sospecha incompatibilidad ABO.
5. 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 estos reactivos se evalúa con los métodos de pruebas recomendados descritos en estas instrucciones de uso frente a los hematíes recubiertos con Anti-D, Anti-K y Anti-Fy[a] para comprobar la reactividad adecuada. 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 potencia anti-IgG se ha estudiado frente al siguiente estándar de referencia de potencia mínima obtenido del *National Institute of Biological Standards and Controls (NIBSC):*
   - Estándar de referencia Anti-AHG 96/666.
3. La reactividad de cualquier componente Anti-IgM, Anti-IgA o anticadena ligera que pueda estar presente no se ha establecido.
4. El control de calidad de los reactivos 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 final 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 uso[6].

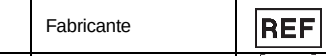
BIBLIOGRAFÍA

1. Voak D, Downie DM, Moore BPL, and Engelfreit CP. Anti-Human Globulin reagent specification. The European and ISBT/ICSH View. Biotest Bulletin 1: 7-22 (1986).
2. The Department of Health and Social Security. Health Services Management Antiglobulin Test. False negative results, HN (Hazard) (83) 625 Nov 1983.
3. Bruce M, Watt AH, Hare W, Blue A, Mitchell R. A serious source of error in antiglobulin testing. Transfusion 1986; **26**: 177-181.
4. Voak D, Downie DM, Moore BPL, Ford DS, Engelfreit CP, Case J. Replicate tests for the detection and correction of errors in AHG (AHG) tests: optimum conditions and quality control. Haematologia 1988; **21**(1): 3-16.
5. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6th Edition 2002. The Stationary Office.
6. 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
Lorne Anti-Human IgG (Clear)	10 ml	401010	100
Lorne Anti-Human IgG (Green)	10 ml	402010	100

TABLA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Definición	Símbolo	Definición
	Fabricante		Número de catálogo
	Limitación de la temperatura		Utilizar antes del YYYY-MM-DD
	Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*		Consultar las instrucciones de uso
	Representante legal		Número de lote
	Símbolo 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

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