



REACTIVOS MONOCLONALES PARA LA DETERMINACIÓN DE GRUPOS SANGUÍNEOS

INSTRUCCIONES DE USO

Anti-A, Anti-B y Anti-A,B Monoclonal: Para técnicas en tubo, Bio-Rad-ID, Ortho BioVue, microplaca y portaobjetos.

RESUMEN

En 1900, Landsteiner descubrió que el suero de algunas personas podía aglutinar los hematíes de otras. Actualmente están reconocidos cuatro fenotipos: O, A, B, y AB. También se han identificado subgrupos de A y B.

Grupo directo			Grupo inverso				Fenotipo ABO	% de caucásicos ¹
A	B	A,B	Ai	A2	B	O		
+	0	+	0	0	+	0	A	43
0	+	+	+	+	0	0	B	9
0	0	0	+	+	+	0	O	44
+	+	+	0	0	0	0	AB	4

USO PREVISTO

Los reactivos para la tipificación ABO son reactivos utilizados para la determinación de grupos sanguíneos que tienen la finalidad de comprobar cualitativamente la presencia o ausencia de los antígenos A y/o B 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

Los reactivos contienen anticuerpos contra los antígenos A y/o B correspondientes en los hematíes humanos y provocarán una aglutinación (agrupación) directa de los hematíes que lleven el correspondiente antígeno ABO. La ausencia de aglutinación indica, en general, la ausencia del correspondiente antígeno ABO en los hematíes humanos (ver **Limitaciones**).

REACTIVOS

Los reactivos Lorne Monoclonal IgM ABO para la determinación de grupos sanguíneos contienen anticuerpos monoclonales de ratón diluidos en tampón fosfato que contiene cloruro sódico, EDTA y albúmina bovina. Los reactivos no contienen ni están compuestos de sustancias CMR, sustancias que alteran el funcionamiento del sistema endocrino, 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 frasco**.

Producto	Línea Celular/Clon	Color	Colorante
Anti-A	9113D10	Azul	Azul patentado
Anti-B	9621A8	Amarillo	Tartracina
Anti-A,B	152D12 + 9113D10 + ES15	Incoloro	Ninguno

CONSERVACIÓN

Los viales de reactivo deben conservarse 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 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 presenten una hemólisis microscópica o contaminación microbiana. Las muestras de sangre que tengan 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.

- Ningún método puede garantizar que los productos derivados de fuentes humanas o animales estén libres de agentes infecciosos. Se debe tener precaución en el uso y eliminación de los frascos y su contenido.

ELIMINACIÓN DEL REACTIVO Y CÓMO ACTUAR EN CASO DE DERRAME

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**, que pueden obtenerse previa solicitud.

CONTROLES Y CONSEJOS

- Se utilizarán un control positivo 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.
- Debido a que los reactivos no contienen potenciadores macromoleculares, es muy poco probable que se provoquen falsas reacciones positivas con las células recubiertas de IgG.
- Las muestras sanguíneas de los subgrupos A y B débiles (p. ej. Ax) pueden dar lugar a falsos negativos o bien reacciones débiles si se usan procedimientos en tarjetas de gel, placas de microtítulo y portaobjetos. Se recomienda estudiar de nuevo los subgrupos débiles utilizando la técnica en tubo.
- Antes de que se confirme el grupo sanguíneo ABO de individuos mayores de 6 meses, los resultados deben estar confirmados mediante análisis de su suero o plasma frente a células de grupos A1 y B conocidas.
- Antes de su uso, se debe dejar que el reactivo alcance la temperatura ambiente. Justo después de usar el reactivo, volver a almacenarlo a 2-8 °C.
- En las **Técnicas recomendadas**, un volumen equivale aproximadamente a 50 µl cuando se utiliza el cuentagotas del vial suministrado.
- La utilización de los reactivos y la interpretación de los resultados se deben llevar a cabo por personal cualificado y formado de acuerdo con 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

- Pipetas volumétricas.
- Tarjetas ID Bio-Rad (NaCl, ensayo enzimático y aglutininas frías).
- Centrifugadora ID Bio-Rad.
- Bio-Rad ID-CellStab o ID-Diluent 2.
- Casetas del sistema Ortho BioVue (Neutros).
- Centrifugadora del sistema Ortho BioVue.
- Diluyente de hematíes Ortho 0,8 %.
- Portaobjetos de vidrio para microscopio o tarjetas blancas.
- Varillas para aplicación.
- Tubos de ensayo de vidrio (10 x 75 mm o 12 x 75 mm).
- Centrífuga para tubos.
- Microplacas de pocillos "U" validadas.
- Centrífuga para microplacas.
- Agitador para microplacas.
- Solución salina amortiguada con fosfato (PBS) (pH 6,8-7,2) o solución salina isotónica (pH 6,5-7,5).
- Hematíes para controles positivos y negativos:
 - Anti-A: grupo A (control positivo) y grupo O (control negativo).
 - Anti-B: grupo B (control positivo) y grupo O (control negativo).
 - Anti-A,B: grupo A y grupo B (controles positivos) y grupo O (control negativo).

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-ABO y 1 volumen de la suspensión de hematíes.
- Mezclar minuciosamente e incubar a temperatura ambiente durante 1 minuto.
- Centrifugar los tubos durante 10 segundos a 1000 rcf o a una fuerza y tiempo alternativos adecuados.
- Volver a suspender cuidadosamente los sedimentos de hematíes 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 4 y 5.

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.
3. Añadir en el microtubo correspondiente: 50 µl de la suspensión de hematíes y 25 µl del reactivo Lorne Anti-ABO.
4. Centrifugar la(s) tarjeta(s) ID en la centrífuga de tarjetas de gel Bio-Rad.
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.
3. Añadir en la cámara de reacción correspondiente: 50 µl de la suspensión de hematíes y 40 µl del reactivo Lorne Anti-ABO.
4. Centrifugar el/los casete(s) en una centrifugadora del sistema Ortho BioVue.
5. Realizar un examen macroscópico para comprobar si hay aglutinación.

D. Técnica en microplacas 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-ABO 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 o utilice sangre total anticoagulada (en su propio plasma).
2. Colocar en un portaobjetos de vidrio o tarjeta etiquetado/a: 1 volumen de reactivo Lorne Anti-ABO 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. Inclinarse lentamente el portaobjetos de atrás a delante durante 30 segundos, y volver a mezclar ocasionalmente durante un período de 1 minuto, manteniendo el portaobjetos a temperatura ambiente.
5. Realizar un examen macroscópico después 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 ABO 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 ABO correspondiente en los hematíes.
3. **Discrepancias:** Si no existe correlación entre los resultados obtenidos con el grupo directo y el grupo inverso, es preciso realizar más pruebas.

ESTABILIDAD DE LAS REACCIONES

1. Leer los análisis realizados en microplacas y tubos inmediatamente tras la centrifugación.
2. Los análisis en portaobjetos deben interpretarse luego de un máximo 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 antígenos ABO no están totalmente desarrollados en el nacimiento, por lo que pueden darse reacciones más débiles con muestras de neonatos y de cordón umbilical.
2. Al utilizar el reactivo monoclonal anti-A,B, las muestras sanguíneas de los subgrupos A o B débiles (ej. Ax) pueden dar lugar a falsos negativos o bien reacciones débiles si se usan procedimientos en tarjetas de gel, placas de microtítulo y portaobjetos. Se recomienda estudiar de nuevo los subgrupos débiles utilizando la técnica en tubo.
3. Los reactivos monoclonales Anti-A y Anti-B Lorne no están validados para detectar los antígenos Ax y A3 o Bx y B3, respectivamente. En consecuencia, no debe exigirse reactividad a los reactivos monoclonales Anti-A o Anti-B frente a estos subgrupos A y B débiles.
4. La sangre almacenada puede dar lugar a reacciones más débiles que la sangre fresca.
5. También pueden darse resultados positivos falsos o negativos falsos 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
 - Muestras de cordón umbilical contaminadas con gelatina de Wharton

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO ESPECÍFICAS

1. Antes de su liberación, cada lote de reactivo monoclonal Lorne ABO 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"³ y las "Especificaciones técnicas comunes".
2. La especificidad de los anticuerpos monoclonales fuente se demuestra utilizando un perfil de células antígeno-negativas.
3. La potencia de los reactivos se ha estudiado frente a los siguientes estándares de referencia de potencia mínima obtenidos del *National Institute of Biological Standards and Controls (NIBSC)*:
 - Estándar de referencia Anti-A 03/188 y/o
 - Estándar de referencia Anti-B 03/164
4. Los reactivos Anti-B Lorne no reaccionan frente a hematíes "B adquiridos".
5. Los reactivos Lorne Monoclonal ABO no detectan antígenos crípticos, tales como T, Tn o Cad.
6. El control de calidad de los reactivos se llevó a cabo mediante el uso de hematíes con fenotipos verificados por un centro de transfusión de sangre del Reino Unido y fueron lavados en PBS o solución salina isotónica antes de su uso.

DESCARGO DE RESPONSABILIDAD

1. El usuario es responsable del funcionamiento del reactivo en cualquier otro método distinto de los mencionados en la sección **Técnicas recomendadas**.
2. Cualquier desviación de las **Técnicas recomendadas** debe validarse antes de su uso⁵.

BIBLIOGRAFÍA

1. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 181.
2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6.
3. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6th Edition 2002. The Stationary Office.
4. AABB Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
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-A Monoclonal	10 ml	600010	200
Anti-B Monoclonal	10 ml	610010	200
Anti-A,B Monoclonal	10 ml	620010	200

TABLA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Definición	Símbolo	Definición
	Responsable de la fabricación		Número de catálogo
	Límites de temperatura		Utilizar antes de YYYY-MM-DD
	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>		Consultar las instrucciones de uso.
	Representante autorizado		Número de lote
	Símbolo CE verificado por un organismo notificado		



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, 2 nd Flr., Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta
----	-----	--