

REACTIVOS MONOCLONALES PARA LA DETERMINACIÓN DE GRUPOS SANGUÍNEOS  
INSTRUCCIONES DE USO

**Monoclonal anti-M Para técnicas en tubo, Bio-Rad-ID, Ortho BioVue y placa de microtitulación.**

## RESUMEN

El antígeno M forma parte del sistema MNS y se notificó por primera vez en 1927. La expresión del antígeno M en los eritrocitos puede presentar efecto de dosis. Los anti-M rara vez se han relacionado con la enfermedad hemolítica del recién nacido o reacciones transfusionales hemolíticas.

Anti-M	Anti-N	Fenotipo	Caucásicos <sup>1</sup>	Afroamericanos <sup>1</sup>
+	0	M+N-	28 %	25,4 %
+	+	M+N+	50 %	48,4 %
0	+	M-N+	22 %	26,7 %

## USO PREVISTO

El reactivo se utiliza para la determinación de grupos sanguíneos y tiene la finalidad de comprobar de manera cualitativa la presencia o ausencia del antígeno M 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 el antígeno M de los eritrocitos humanos y provoca la aglutinación (agrupación) directa de los eritrocitos humanos portadores del antígeno M. La ausencia de aglutinación (ausencia de agrupación) indica en general la ausencia del antígeno M (véanse las **Limitaciones**).

## REACTIVOS

El reactivo monoclonal anti-M de Lorne para la determinación del grupo sanguíneo es un reactivo que contiene un anticuerpo IgG monoclonal murino (clon n.º LM110/140) diluido en un tampón con cloruro sódico (0,6 g%), albúmina bovina (4,0 g%) y un conservante. El reactivo no contiene ni está compuesto de sustancias CMR, sustancias que alteran el funcionamiento del sistema endocrino, o que podrían causar sensibilización o una reacción alérgica al usuario. El 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**.

## 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 presenten una hemólisis macroscópica o contaminación microbiana. Las muestras de sangre que tengan evidencias de lisis pueden dar lugar a resultados no fiables. Es preferible (aunque no esencial) lavar todas las muestras de sangre con solución salina no taponada 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 se han filtrado a través de una cápsula de 0,2 µm para reducir la carga biológica, pero no se suministran estériles. 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 reactivos se probaron en origen y se determinó que son negativos para los anticuerpos contra el VIH 1 + 2, 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 analizar un control positivo (idealmente heterocigoto) y un control negativo en paralelo con cada lote de análisis. Los análisis deben considerarse no válidos si los controles no muestran los resultados esperados.
- Cuando se tipifican eritrocitos de un paciente al que se le ha diagnosticado una enfermedad que hace que los eritrocitos se recubran de anticuerpos u otras proteínas (como HDN, AIHA), es importante analizar los eritrocitos del paciente utilizando un control negativo de Lorne (n.º de catálogo: 650010). Los análisis deben considerarse inválidos si los hematíes se aglutinan con el control negativo de Lorne.
- Antes de su uso, 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 deben llevarse a cabo por personal cualificado y formado de acuerdo con los requisitos del país donde se esté utilizando el reactivo.
- 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

- Centrífuga con capacidad de giro a 1000 g durante 20 segundos.
- Tubos de ensayo de vidrio (10 x 75 mm o 12 x 75 mm).
- Hematíes de control positivos (idealmente M+N+) y negativos (N+N+).

### Técnica de microtipado en Bio-Rad-ID

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

### Técnica de tipado en Ortho BioVue

- Casetes del equipo Ortho BioVue (neutros).
- Centrífuga del sistema Ortho BioVue.

### Técnica en placa de microtitulación

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

### Todas las técnicas

- Pipetas volumétricas.
- Solución salina no taponada.

## TÉCNICAS RECOMENDADAS

### A. Técnica en tubo

- Preparar una suspensión de 2-3% de eritrocitos en solución salina no taponada (**véanse las Limitaciones**).
- Añadir en un tubo etiquetado: 1 volumen de reactivo de Lorne y 1 volumen de la suspensión de hematíes.
- Centrifugar los tubos durante 20 segundos a 1000 rcf o a una fuerza y tiempo alternativos adecuados.
- Volver a suspender cuidadosamente el sedimento celular y realizar un examen macroscópico para comprobar si hay aglutinación.

### B. Técnica de tipado en Ortho BioVue (tarjetas neutras)

- Preparar una suspensión de hematíes al 0,8% en solución salina no taponada (**véanse las Limitaciones**).
- Retirar el papel de aluminio de tantas cámaras de reacción de los casetes neutros como sea necesario.
- Añadir en la cámara de reacción correspondiente: 50µl de suspensión de eritrocitos y 40µl de reactivo de Lorne.
- Centrifugar el/los casete/s en una centrífuga Ortho BioVue.
- Realizar un examen macroscópico para comprobar si hay aglutinación.

### C. Técnica de microtipado en Bio-Rad-ID

1. Preparar una suspensión de hematíes al 0,8% en solución salina no taponada (**véanse las Limitaciones**).
2. Retirar el papel de aluminio de los microtubos necesarios de una/s tarjeta/s ID NaCl, ensayo enzimático y aglutininas frías.
3. Añadir en el microtubo correspondiente: 50µl de suspensión de eritrocitos y 25µl de reactivo de Lorne.
4. Centrifugar la/s tarjeta/s ID en una centrífuga Bio-Rad ID.
5. Realizar un examen macroscópico para comprobar si hay aglutinación.

### D. Técnica en placa de microtitulación con pocillos "U"

1. Preparar una suspensión de 2-3% de eritrocitos en solución salina no taponada (**véanse las Limitaciones**).
2. Añadir en el pocillo correspondiente: 1 volumen de reactivo Lorne y 1 volumen de la suspensión de hematíes.
3. Mezclar minuciosamente, preferiblemente con un agitador para microplacas, con cuidado 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 sedimentos 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.

### INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

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

### ESTABILIDAD DE LAS REACCIONES

1. Los análisis realizados en tubos deben leerse inmediatamente después de la centrifugación. 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 interpretarse con cautela.

### LIMITACIONES

1. Este reactivo reacciona de forma óptima con antígenos M con pH 8,5. Aunque el reactivo contiene un tapón ideal para este pH, deben respetarse los siguientes puntos:
  - Las suspensiones de eritrocitos en medios taponados (por ejemplo, Alsevers) deben lavarse al menos 3 veces en solución salina no taponada antes de su utilización.
  - El uso de medios taponados para lavar o hacer suspensiones de eritrocitos puede dar resultados espurios y debe evitarse.
  - No debe utilizarse solución salina no taponada con un pH inferior a 6 para lavar o hacer suspensiones de eritrocitos.
2. No deben utilizarse células modificadas por enzimas proteolíticas, ya que los antígenos MN pueden haber sido destruidos.
3. La supresión o la disminución de la expresión de ciertos antígenos del grupo sanguíneo pueden, por el contrario, dar lugar a reacciones negativas falsas, por lo que siempre se debe tener precaución al asignar fenotipos con base en los resultados de las pruebas.
4. También pueden darse falsos positivos o falsos negativos en los resultados 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 distribución, cada lote de este reactivo se evalúa con los métodos de análisis 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 en sangre del Reino Unido".
2. La especificidad de los anticuerpos monoclonales fuente se demuestra utilizando un perfil de células antígeno-negativas.
3. El control de calidad de los reactivos se realizó utilizando eritrocitos con fenotipos verificados por un centro de transfusión sanguínea del Reino Unido y que habían sido lavados con solución salina no taponada antes de su uso.

### EXENCIÓN 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 uso<sup>5</sup>.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 190.

2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3<sup>rd</sup> Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 14.
3. AABB Technical Manual, 16<sup>th</sup> edition, AABB 2008.
4. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6<sup>th</sup> 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

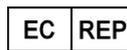
	Tamaño del vial	Número de catálogo	Pruebas por vial
Monoclonal anti-M	2 ml	772002	40
	1000 ml	772000*	20.000

\*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, 2<sup>nd</sup> Flr.,  
Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta