

REACTIVOS DE LECTINAS PARA LA DETERMINACIÓN DE GRUPOS SANGUÍNEOS INSTRUCCIONES DE USO

Lectinas anti-N: Para las técnicas en tubo y Bio-Rad-ID.

RESUMEN

El antígeno N forma parte del sistema MNSs y se notificó en 1927. Los anti-N suelen reaccionar a temperatura ambiente, por lo que raramente están implicados en las reacciones hemolíticas transfusionales y en la enfermedad hemolítica del recién nacido.

| Anti-M | Anti-N | Fenotipo | Caucásicos ¹ | Afroamericanos ¹ |
|--------|--------|----------|-------------------------|-----------------------------|
| + | 0 | M+N- | 28 %. | 25,5 %. |
| + | + | M+N+ | 50 %. | 48,4 %. |
| 0 | + | M-N+ | 22 %. | 26,7 %. |

USO PREVISTO

Este reactivo se utiliza para la determinación de grupos sanguíneos y tiene la finalidad de comprobar de manera cualitativa la presencia o ausencia del antígeno N (MNS2) 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 glicoproteínas que tienen su origen en la hoja de *Vicia unijuga* y provocan la aglutinación (agrupación) de los glóbulos rojos que llevan el antígeno N, después de la centrifugación. La ausencia de aglutinación (ausencia de agrupación) indica, en general, la ausencia del antígeno N (véanse las Limitaciones).

REACTIVO

El reactivo de lectinas Anti-N de Lorne para la determinación de grupos sanguíneos se prepara a partir de un extracto de hojas de *Vicia unijuga*, diluidas con una solución de cloruro sódico que contiene albúmina bovina. El reactivo no contiene ni está compuesto de sustancias CMR, sustancias que alteran el funcionamiento del sistema endocrino o que le 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 frasco**.

CONSERVACIÓN

Los frascos 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 uso y 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 de sangre pueden recogerse en anticoagulantes EDTA, 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 (pero no esencial) lavar todas las muestras de sangre con PBS o solución salina isotónica antes de realizar el análisis.

PRECAUCIONES

1. El reactivo es solo para uso en diagnóstico *in vitro*.
2. Si el frasco del reactivo está roto o gotea, se debe desechar inmediatamente el contenido.
3. No utilizar el reactivo caducado (ver la **etiqueta del frasco**).
4. No utilizar el reactivo si presenta precipitado.
5. La manipulación de los reactivos debe realizarse con la apropiada indumentaria de protección, tales como guantes desechables y bata de laboratorio.
6. El reactivo ha sido filtrado a través de una cápsula de 0,2 µm para reducir la carga biológica, pero no se suministra esterilizado. Una vez abierto el frasco, el contenido debe permanecer viable hasta la fecha de caducidad, siempre y cuando no haya una notable turbidez, lo que podría indicar el deterioro o la contaminación del reactivo.
7. El reactivo contiene un 0,1 % de azida de sodio. La azida de sodio 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. Ningún método puede garantizar que los productos derivados de fuentes humanas o animales no contengan agentes infecciosos. Se debe tener precaución durante el uso y la eliminación de los frascos y su contenido.
9. Los materiales bovinos proceden de fuentes para las que se dispone de información sobre el origen. Se ha examinado a los animales donantes de material bovino y se ha confirmado que no tienen enfermedades. Además, se ha considerado que tienen un riesgo bajo de padecer una EET (encefalopatía espongiiforme transmisible).
10. Cuando se haya utilizado el contenido del frasco, se debe tirar el frasco vacío a un contenedor amarillo de residuos.

ELIMINACIÓN DEL REACTIVO Y CÓMO ACTUAR EN CASO DE DERRAME

Trate los residuos según las normas locales, estatales y nacionales. Para obtener más información sobre la eliminación del reactivo 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

1. Se recomienda la utilización de un control positivo (idealmente células heterocigotas) y un control negativo para analizar de forma paralela con cada lote de pruebas. Los análisis deben considerarse no válidos si los controles no muestran los resultados esperados.
2. 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.
3. En las **Técnicas recomendadas**, un volumen equivale aproximadamente a 50 µl cuando se utiliza el cuentagotas del frasco suministrado.
4. El empleo del reactivo 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 del reactivo para su uso en otras técnicas.
5. El reactivo se utiliza en un método analítico manual. El usuario final es el responsable de decidir la idoneidad del dispositivo para otras técnicas o sistemas de pruebas.
6. Se debe utilizar instrumental aforado o comprobado cuando proceda.
7. Si se ha producido un accidente grave (según se establece en la normativa pertinente) que pueda atribuirse al reactivo de Lorne, el usuario final del reactivo debe informar de inmediato al fabricante y a la autoridad competente del país en el que se produjo el accidente.

REACTIVOS Y MATERIALES NECESARIOS, PERO NO SUMINISTRADOS

Técnica en tubo

- Tubos de ensayo de vidrio (10 x 75 mm o 12 x 75 mm).
- Centrifugadora de tubos de ensayo que pueda girar a 1000 g durante 20 segundos.
- Baño de agua o incubadora de calor seco equilibrada a 37 °C ± 2 °C
- Solución tampón fosfato salino (PBS) (pH 6,8-7,2) o solución salina isotónica (pH 6,5-7,5).
- Glóbulos rojos de control positivos (idealmente M+N+) y negativos (M+M+).

Técnica de micro tipificación en Bio-Rad-ID

- Tarjetas de identificación Bio-Rad (NaCl, ensayo enzimático y crioaglutininas).
- Centrifugadora Bio-Rad ID.
- Bio-Rad ID-CellStab o ID-Diluent 2.
- Incubadora Bio-Rad ID equilibrada a 37 °C ± 2 °C.

Todas las técnicas

- Pipetas volumétricas.

TÉCNICAS RECOMENDADAS

A. Técnica en tubo

1. Preparar una suspensión de hematíes al 2-3 % en PBS o solución salina isotónica.
2. Añadir en un tubo etiquetado: 1 volumen de reactivo de Lorne y 1 volumen de la suspensión de hematíes.
3. Mezclar minuciosamente y luego incubar a 37 °C durante 15 minutos.
4. Centrifugar todos los tubos durante 20 segundos a 1000 fcr o a una fuerza y tiempo alternativos adecuados.
5. Volver a suspender con cuidado el sedimento de eritrocitos y realizar un examen macroscópico para comprobar si hay aglutinación.

B. Técnica de micro tipificación en Bio-Rad-ID

1. Preparar una suspensión de glóbulos rojos al 0,8 % en ID-CellStab o ID-Diluent 2.
2. Retirar el papel de aluminio de los microtubos necesarios de una tarjeta Bio-Rad NaCl, ensayo enzimático y crioaglutininas.
3. Añadir en el microtubo correspondiente: 50 µl de la suspensión de glóbulos rojos y 25 µl del reactivo de Lorne.
4. Incubar la/s tarjeta/s de ID durante 15 minutos a 37 °C.
5. Centrifugar la/s tarjeta/s de ID en una centrifugadora Bio-Rad ID.
6. Realizar un examen macroscópico para comprobar si hay aglutinación.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

1. **Positivo:** La aglutinación de glóbulos rojos constituye un resultado positivo y, dentro de las limitaciones aceptadas para el método analítico, indica la presencia del antígeno N en los glóbulos rojos.
2. **Negativo:** La ausencia de aglutinación constituye un resultado negativo y, dentro de las limitaciones aceptadas para el método analítico, indica la ausencia del antígeno N en los glóbulos rojos.

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 inmunocomplejos, lo que provoca resultados negativos falsos o positivos débiles.
2. Los resultados de los análisis realizados a temperaturas distintas de las aquí recomendadas deben interpretarse con cautela.

LIMITACIONES

1. Si se obtienen resultados ambiguos, se recomienda lavar los glóbulos rojos al menos dos veces.
2. La sangre almacenada puede dar lugar a reacciones más débiles que la sangre roja.
3. 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. El reactivo está indicado para el uso en muestras de sangre de personas.
2. 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 los requisitos de análisis, según se describen en las «Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom» («Directrices para los servicios de transfusión de sangre en el Reino Unido»).
3. El control de calidad de los reactivos se llevó a cabo mediante el uso de glóbulos rojos 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 las **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 190.
2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 14.
3. AABB Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
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 frasco | Número de catálogo | Pruebas por frasco |
|-----------------|-------------------|--------------------|--------------------|
| Lectinas Anti-N | 2 ml | 312002 | 40 |
| | 1000 ml | 312000* | 20 000 |

*Este tamaño es solo para fabricación posterior (FFMU, por sus siglas en inglés) y, por lo tanto, no cuenta con el marcado CE/UKCA.

TABLA DE SÍMBOLOS

| Símbolo | Definición | Símbolo | Definición |
|---|---|---|------------------------------------|
|  | Fabricante | REF | Número de catálogo |
|  | Limitación de la temperatura |  | Utilizar antes del YYYY-MM-DD |
| IVD | Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i> |  | Consultar las instrucciones de uso |
| EC REP | Representante legal | LOT | Número del lote |
|  | No esterilizado | | |



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