

**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			ABO	Caucásicos
A	B	A,B	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	O	Fenotipo	%
+	0	+	0	0	0	A	42
0	+	+	+	+	0	B	10
0	0	+	+	+	0	O	44
+	+	+	0	0	0	AB	4

**PRINCIPIO**

Los reactivos provocarán una aglutinación (agrupación) directa de los hematíes de la prueba que lleven el correspondiente antígeno ABO. La ausencia de aglutinación suele indicar la ausencia del antígeno ABO (véase la sección Limitaciones).

**REACTIVO**

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, 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, consúltese la etiqueta.

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, 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 (pero no esencial) lavar todas las muestras de sangre con PBS o solución salina isotónica antes de realizar el análisis.

**PRECAUCIONES**

1. El reactivo no está indicado para uso en diagnóstico *in vitro*.
2. Si el vial del reactivo está roto o agrietado, descartar inmediatamente su contenido.
3. No utilizar el reactivo caducado (véase 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 de nitrilo desechables y bata de laboratorio.
6. El reactivo ha sido filtrado a través de cápsulas de 0,2 µm para reducir la carga microbiana. 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. 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 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**

1. Los controles positivos y negativos conocidos deben analizarse en paralelo con cada lote de pruebas. Los análisis deben considerarse no válidos si los controles no muestran los resultados esperados. El control positivo es una muestra que contiene el antígeno correspondiente al anticuerpo utilizado en

el reactivo, mientras que el control negativo es una muestra que carece del mismo.

2. 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.
3. 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.
4. 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 A<sub>1</sub> y B conocidas.
5. En las Técnicas recomendadas, un volumen equivale aproximadamente a 50 µl cuando se utiliza el cuentagotas del vial suministrado.
6. 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.
7. El usuario debe determinar la idoneidad de los reactivos para su uso en otras técnicas.
8. Para incidentes graves en otros países, informe al fabricante y, si corresponde, a su autoridad competente nacional.

**REACTIVOS Y MATERIALES NECESARIOS**

- Varillas para aplicación.
- Lector automático de placas.
- Tarjetas ID Bio-Rad (NaCl, ensayo enzimático y aglutininas frías).
- Centrifuga Bio-Rad ID.
- Bio-Rad ID-CellStab o ID-Diluent 2.
- Portaobjetos de vidrio para microscopio o tarjetas blancas.
- Tubos de ensayo de vidrio (10 x 75 mm o 12 x 75 mm).
- Centrifuga para microplacas.
- Casetes del sistema Ortho BioVue (Neutros).
- Centrifuga del sistema Ortho BioVue.
- Diluyente de glóbulos rojos Ortho 0,8 %.
- Agitador para microplacas.
- Solución salina amortiguada con fosfato (PBS, por sus siglas en inglés) (pH 6,8-7,2) o solución salina isotónica (pH 6,5-7,5).
- Hematíes de control positivo y negativo con antígenos ABO conocidos:
  - (a) Anti-A: grupo A (control positivo) y grupo O (control negativo).
  - (b) Anti-B: grupo B (control positivo) y grupo O (control negativo).
  - (c) Anti-A,B: grupo A y grupo B (controles positivos) y grupo O (control negativo).
- Centrifuga para tubos.
- Microplacas de pocillos "U" validadas.
- 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 Lorne Anti-ABO y 1 volumen de la suspensión de hematíes.
3. Mezclar minuciosamente e incubar a temperatura ambiente durante 1 minuto.
4. Centrifugar los tubos durante 10 segundos a 1000 rcf o a una fuerza y tiempo alternativos adecuados.
5. Volver a suspender cuidadosamente los sedimentos de hematíes y realizar un examen macroscópico para comprobar si hay aglutinación.
6. Cualquier tubo que muestre un resultado negativo o cuestionable, debe ser incubado durante 15 minutos a temperatura ambiente.
7. Tras la incubación, repetir los pasos 4 y 5.

**B. Técnica de 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.
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 centrifuga de tarjetas de gel Bio-Rad.
5. Realizar un examen macroscópico para comprobar si hay aglutinación.

**C. Técnica de tipificación en Ortho BioVue**

1. Preparar una suspensión de glóbulos rojos al 0,8 % en diluyente de glóbulos rojos 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 centrifuga 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

- crucada.
- Incubar a temperatura ambiente durante 15 minutos (tiempo en función del usuario).
  - Centrifugar la microplaca durante 1 minuto a 140 rcf o a una fuerza y tiempo alternativos adecuados.
  - Volver a suspender los sedimentos celulares mediante una agitación cuidadosamente controlada en un agitador para microplacas.
  - Leer macroscópicamente o con un lector automático validado.
  - Cualquier reacción débil debe ser repetida con la técnica en tubo.

**E. Técnica en portaobjetos**

- Preparar una suspensión de hematíes al 35-45 % en suero, plasma, PBS o solución salina isotónica o utilizar sangre total anticoagulada (en su propio plasma).
- 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.
- Mezclar el reactivo y las células con una varilla limpia en un área de unos 20 x 40 mm.
- 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.
- Realizar un examen macroscópico después de 1 minuto sobre una luz difusa y no confundir las fibras de fibrina con la aglutinación.
- Cualquier reacción débil debe ser repetida con la técnica en tubo.

**INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS**

- 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.
- 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.
- Interpretación: La reacción puede interpretarse si los resultados obtenidos con las muestras de control son válidos y los resultados obtenidos en la agrupación inversa se corresponden con los obtenidos en la agrupación directa. Si se obtienen resultados débiles, es necesario que el usuario realice más pruebas.

**ESTABILIDAD DE LAS REACCIONES**

- Leer los análisis realizados en microplacas y tubos inmediatamente tras la centrifugación.
- Los análisis en portaobjetos deben interpretarse en el plazo 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.
- Los resultados de los análisis realizados a temperaturas distintas de las aquí recomendadas deben ser interpretados con cautela.

**LIMITACIONES**

- 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.
- Al utilizar el reactivo monoclonal anti-A,B, las muestras sanguíneas de los subgrupos A o 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.
- 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.
- La sangre almacenada puede dar lugar a reacciones más débiles que la sangre fresca.
- 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
  - Muestras de cordón umbilical contaminadas con gelatina de Wharton.

**CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO ESPECÍFICAS**

- Los reactivos se han caracterizado mediante todos los procedimientos mencionados en la sección Técnicas recomendadas.
- Antes de su comercialización, cada lote de Lorne Monoclonal Anti-A, Anti-B and Anti-A,B se evalúa con los métodos de pruebas recomendados frente a los hematíes recubiertos con anticuerpos para comprobar la reactividad adecuada.

- La especificidad de los anticuerpos monoclonales fuente se demuestra utilizando un perfil de células antígeno-negativas.
- 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.
- Los reactivos Anti-B Lorne no reaccionan frente a hematíes "B adquiridos".
- Los reactivos Lorne Monoclonal ABO no detectan antígenos crípticos, tales como T, Tn o Cad.
- El control de calidad del reactivo se llevó a cabo mediante el uso de hematíes que fueron lavados al menos dos veces en PBS o solución salina isotónica antes de las uso.
- Los reactivos cumplen con las especificaciones internas del fabricante.

**DESCARGO DE RESPONSABILIDAD**

- El usuario es responsable del funcionamiento del reactivo en cualquier otro método distinto de los mencionados en la sección Técnicas recomendadas.
- Cualquier desviación de las técnicas recomendadas debe validarse antes de su uso<sup>6</sup>.





**BIBLIOGRAFÍA**

- Kholer G, Milstein C. Continuous culture of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975; 256, 495-497
- Messeter L et al. Mouse monoclonal antibodies with Anti-A, Anti-B and Anti-A, B specificities, some superior to human polyclonal ABO reagents. *Vox Sang* 1984; 46, 185-194
- Race RR, Sanger R. *Blood Groups in Man*, 6th Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1975; Chapter 2.
- Mollison PL. *Blood Transfusion in Clinical Medicine*, 8th Edition, Blackwell Scientific, Oxford 1987; Chapter 7.
- Issitt PD. *Applied Blood Group Serology*, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6
- BSCH Blood Transfusion Task Force. Guidelines for microplate techniques in liquid-phase blood grouping and antibody screening, *Clinical Laboratory Haematology* 1990; 12, 437-460.
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. H.M.S.O. Current Edition.
- 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
Anti-A Monoclonal	10 ml	600010E
	1000 ml	600000E
	5000 ml	600000EX5
Anti-B Monoclonal	10 ml	610010E
	1000 ml	610000E
	5000 ml	610000EX5
Anti-A,B Monoclonal	10 ml	620010E
	1000 ml	620000E
	5000 ml	620000EX5

**TABLA DE SIMBOLOS**

Símbolo	Definición	Símbolo	Definición
	Responsable de la fabricación	<b>REF</b>	Número de catálogo
	Límites de temperatura		Utilizar antes de YYYY-MM-DD
	Consúltese las instrucciones de uso.	<b>LOT</b>	Número de lote