



REACTIVOS MONOCLONALES PARA LA DETERMINACIÓN DE GRUPOS SANGUÍNEOS INSTRUCCIONES DE USO

Monoclonal anti-k (Cellano) Para técnicas de antiglobulina indirecta.

RESUMEN

El antígeno k (Cellano) se notificó en 1949. El anti-k se ha relacionado con las reacciones transfusionales hemolíticas y la enfermedad hemolítica del recién nacido.

Anti-K	Anti-k	Fenotipo	Caucásicos ¹	Negros ¹
+	0	K+k-	0,2 %	Raro
+	+	K+k+	8,8 %	2 %
0	+	K-k+	91,0 %	98 %

USO PREVISTO

Este reactivo se utiliza para la determinación de grupos sanguíneos y tiene la finalidad de comprobar cualitativamente la presencia o ausencia del antígeno k (Cellano) 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 k (Cellano) de los eritrocitos humanos y provocará una aglutinación (agrupación) indirecta de los eritrocitos humanos portadores del antígeno específico correspondiente en la fase antiglobulina de la prueba. La ausencia de aglutinación (ausencia de agrupación) indica en general la ausencia del antígeno k (Cellano) correspondiente (véanse las **Limitaciones**).

REACTIVOS

Este reactivo monoclonal IgG para la determinación de grupos sanguíneos contiene anticuerpos monoclonales humanos diluidos en un tampón fosfato que contiene cloruro sódico 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. 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**.

Producto	Línea Celular/Clon
Anti-k (Cellano)	P3A118OL67

CONSERVACIÓN

No congelar. 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 (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 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 un 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 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 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.
- Las técnicas de antiglobulina solo pueden considerarse válidas si todas las pruebas negativas reaccionan de manera positiva con hematíes sensibilizados con IgG.
- 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 la **técnica en tubo**, un volumen es aproximadamente 50 µl cuando se utiliza el cuentagotas de 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, PERO NO SUMINISTRADOS

Técnica en tubo

- Globulina antihumana; es decir, Lorne AHG Elite (n.º de cat. 435010 o 415010) o IgG antihumana; es decir, Lorne Anti-Human IgG (n.º de cat. 402010 o 401010).
- Lavador de células de Coombs.
- Tubos de ensayo de vidrio (10 x 75 mm o 12 x 75 mm).
- Solución salina amortiguada con fosfato (PBS) (pH 6,8-7,2) o solución salina isotónica (pH 6,5-7,5).
- Hematíes sensibilizados con IgG; es decir, Lorne Coombs Control Cells (n.º de cat. 970010).
- Hematíes de control positivos (idealmente heterocigotas) y negativos.
- Baño de agua o incubadora de calor seco equilibrada a 37 °C ± 2 °C

Técnica de microtipado en Bio-Rad-ID

- Tarjetas Bio-Rad ID (LISS/Coombs o Coombs Anti-IgG).
- Centrífuga Bio-Rad ID.
- Bio-Rad ID-CellStab o ID-Diluent 2.
- Incubadora Bio-Rad ID equilibrada a 37 °C ± 2°.

Técnica de tipado en Ortho Biovue

- Casetas del equipo Ortho BioVue (AHG Poliespecífico o AHG Anti-IgG).
- Centrífuga del equipo Ortho BioVue.
- Calentador de bloque del equipo Ortho BioVue equilibrado a 37 °C ± 2 °C.
- Diluyente de hematíes Ortho 0,8 %.

Todas las técnicas

Pipetas volumétricas.

TÉCNICAS RECOMENDADAS

A. Técnica de antiglobulina indirecta (TAI)

- Preparar una suspensión de hematíes al 2-3 % en PBS o solución salina isotónica.
- Añadir en un tubo etiquetado: 1 volumen de reactivo de Lorne y 1 volumen de la suspensión de hematíes.
- Mezclar minuciosamente e incubar a 37 °C durante 15 minutos.
- Lavar los hematíes 1 vez con PBS o solución salina isotónica, teniendo cuidado de decantar completamente la solución salina después del lavado.
- Añadir 2 volúmenes de globulina antihumana o anti-IgG a cada sedimento de células secas.
- 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 sedimento celular y realizar un examen macroscópico para comprobar si hay aglutinación.
8. Confirmar la validez de todas las reacciones negativas con hematíes sensibilizados con IgG.

B. Técnica de microtipado en Bio-Rad-ID

1. Preparar una suspensión de hematíes al 0,8 % en ID-CellStab o ID-Diluent 2.
2. Retirar el papel de aluminio de tantos microtubos como sea necesario en tarjetas de identificación LISS/Coombs o Coombs Anti-IgG.
3. Añadir en el microtubo correspondiente: Colocar en el microtubo apropiado 50µl de suspensión de eritrocitos y 25µl de reactivo de Lorne.
4. Incubar la/s tarjeta/s ID durante 15 minutos a 37 °C.
5. Centrifugar la/s tarjeta/s ID en la centrífuga Bio-Rad ID.
6. Realizar un examen macroscópico para comprobar si hay aglutinación.

C. Técnica de tipado en Ortho Biovue

1. Preparar una suspensión de hematíes al 0,8 % en diluyente de hematíes Ortho 0,8 %.
2. Retirar el papel de aluminio de tantas cámaras de reacción como sea necesario en casetes AHG Polyspecific o AHG Anti-IgG .
3. Colocar en la cámara de reacción correspondiente: 50µl de suspensión de eritrocitos y 40µl de reactivo de Lorne.
4. Incubar el/los casete/s durante 15 minutos a 37 °C.
5. Centrifugar el/los casete/s en una centrífuga del equipo Ortho BioVue.
6. Realizar un examen macroscópico para comprobar si hay aglutinación.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

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

ESTABILIDAD DE LAS REACCIONES

1. Los pasos de lavado deben llevarse a cabo 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 tipar mediante la **técnica de antiglobulina indirecta**.
2. 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 genotipos con base en los resultados de las pruebas.
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. Antes de su distribución, cada lote de estos reactivos fue sometido a pruebas utilizando los métodos de prueba recomendados que figuran en esta IFU. 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 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 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 uso⁵.

BIBLIOGRAFÍA

1. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 186.
2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 13.
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 vial	Número de catálogo	Pruebas por vial
Anti-k (cellano) Monoclonal	2 ml	325002	40
	1000 ml	325000*	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, 2nd Flr.,
 Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta