

REACTIVOS MONOCLONALES PARA LA DETERMINACIÓN DE GRUPOS SANGUÍNEOS INSTRUCCIONES DE USO

Monoclonal anti-K: Para técnicas en tubo, Bio-Rad-ID, Ortho BioVue, microplaca y portaobjetos.

RESUMEN

EL antígeno K se notificó en 1946. El antígeno se encuentra completamente desarrollado al nacer y puede ser extremadamente inmunogénico. Los anti-K se han relacionado con las reacciones hemolíticas transfusionales y la enfermedad hemolítica del recién nacido.

Anti-K	Anti-k	Fenotipo	Caucásicos ¹	Afroamericanos ¹
+	0	K+k-	0,2 %	Raro
+	+	K+k+	8,8 %	2 %
0	+	K-k+	91 %	98 %
0	0	K _o		Muy raro

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 Kell (KEL1) 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 de los eritrocitos humanos y provoca la aglutinación (agrupación) directa de los eritrocitos humanos portadores del antígeno Kell. La ausencia de aglutinación (ausencia de agrupación) indica en general la ausencia del antígeno Kell (véanse las **Limitaciones**).

REACTIVO

El reactivo monoclonal anti-K de Lorne para determinación de grupo sanguíneo es un reactivo bajo en proteínas que contiene el anticuerpo monoclonal IgM, con MS-56, diluido en un tampón fosfato con cloruro sódico, albúmina bovina y potenciadores macromoleculares (4,0 g%). 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 (pero no esencial) lavar todas las muestras de sangre con PBS o solución salina isotónica antes de realizar el análisis.

PRECAUCIONES

- El reactivo es solo para uso en diagnóstico *in vitro*.
- Si el vial del reactivo está roto o agrietado, descartar inmediatamente su contenido.
- No utilizar el reactivo después de la fecha de caducidad (véase la **etiqueta del vial**).
- No utilizar el reactivo si presenta precipitado.
- La manipulación de los reactivos debe realizarse con la apropiada indumentaria de protección, tales como guantes desechables y bata de laboratorio.
- El reactivo se ha filtrado a través de una cápsula de 0,2 µm para reducir la carga biológica, pero no se suministra estéril. 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.
- El reactivo contiene < 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 el reactivo se probaron en origen y se determinó que son negativos para los anticuerpos contra el VIH 1 + 2 y 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, es importante incluir un control negativo del reactivo (control monoclonal Rh, número de catálogo de Lorne: 640010), ya que los potenciadores macromoleculares del reactivo pueden provocar falsas reacciones positivas con células recubiertas de IgG.
- Las técnicas en tarjetas de gel, placas de microtitulación y portaobjetos pueden no detectar de manera eficaz los antígenos K débiles. Se recomienda que los antígenos K débiles se analicen mediante la técnica de análisis en tubo.
- 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 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 del reactivo para su uso en otras técnicas.

REACTIVOS Y MATERIALES NECESARIOS, PERO NO SUMINISTRADOS

Técnica en tubo

- Tubos de ensayo de vidrio (10 x 75 mm o 12 x 75 mm).
- Centrífuga con capacidad de giro a 1000 g durante 20 segundos.
- Solución salina amortiguada con fosfato (PBS) (pH 6,8-7,2) o solución salina isotónica (pH 6,5-7,5).
- Hematíes de control positivos (idealmente Kk) y negativos (kk).

Técnica de microtipado en Bio-Rad-ID

- Tarjetas ID Bio-Rad (NaCl, ensayo enzimático y aglutininas frías).
- Centrífuga Bio-Rad ID.
- Bio-Rad ID-CellStab o ID-Diluent 2.

Técnica de tipado en Ortho BioVue

- Casetes del equipo Ortho BioVue (neutros).
- Centrífuga del sistema Ortho BioVue.
- Diluyente de hematíes Ortho 0,8 %.

Técnica en placa de microtitulación

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

Técnica en portaobjetos

- Portaobjetos de vidrio para microscopio o tarjetas blancas.
- Varillas para aplicación.
- Temporizador o cronómetro

Todas las técnicas

- Pipetas volumétricas.

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 de Lorne y 1 volumen de la suspensión de hematíes.
- Mezclar minuciosamente y centrifugar todos 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.
- Cualquier tubo que muestre un resultado negativo o cuestionable, debe ser incubado durante 15 minutos a temperatura ambiente.
- Tras la incubación, repetir los pasos 3 y 4.

B. Técnica en Bio-Rad ID (tarjetas de 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 de una tarjeta 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 la centrífuga Bio-Rad ID.
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 de un/os casete/s neutro/s.
3. Añadir en la cámara de reacción correspondiente: 50µl de suspensión de eritrocitos y 40µl de reactivo de Lorne.
4. Centrifugar el/los casete/s en una centrífuga del equipo Ortho BioVue.
5. Realizar un examen macroscópico para comprobar si hay aglutinación.

D. Técnica en microplacas con pocillos "U"

0. Preparar una suspensión de hematíes al 2-3 % en PBS o solución salina isotónica.
1. Añadir en el pocillo correspondiente: 1 volumen de reactivo Lorne y 1 volumen de la suspensión de hematíes.
2. Mezclar minuciosamente, preferiblemente con un agitador para microplacas, cuidando de evitar cualquier contaminación cruzada.
3. Incubar a temperatura ambiente durante 15 minutos (tiempo en función del usuario).
4. Centrifugar la microplaca durante 1 minuto a 140 rcf o a una fuerza y tiempo alternativos adecuados.
5. Volver a suspender los botones celulares mediante una agitación cuidadosamente controlada en un agitador para microplacas.
6. Leer macroscópicamente o con un lector automático validado.
7. Cualquier reacción débil debe ser repetida con la técnica en tubo.

E. Técnica en portaobjetos

1. Preparar una suspensión de eritrocitos al 35-45 % en suero, plasma, PBS o solución salina isotónica. Si no es posible, también puede utilizarse sangre completa anticoagulada como muestra.
2. Colocar en un portaobjetos de vidrio o tarjeta etiquetado/a: 1 volumen de reactivo de Lorne 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. Inclinar lentamente el portaobjetos de atrás a delante durante 1 minuto, manteniendo el portaobjetos a temperatura ambiente.
5. Realizar un examen macroscópico luego de 1 minuto sobre una luz difusa y no confundir las fibras de fibrina con la aglutinación.
6. Cualquier reacción débil debe repetirse 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 K en los hematíes.
2. **Negativo:** La ausencia de aglutinación de los eritrocitos constituye un resultado negativo y, dentro de las limitaciones aceptadas para el procedimiento del análisis, indica la ausencia del antígeno K en los hematíes.
3. Se deben excluir los resultados de las pruebas de células que se aglutinen con el control negativo del reactivo, ya que la aglutinación más probablemente es causada por el efecto de los potenciadores macromoleculares del reactivo en células sensibilizadas.

ESTABILIDAD DE LAS REACCIONES

1. Leer todos los análisis realizados en microplacas y tubos inmediatamente después de la centrifugación.
2. Los análisis en portaobjetos deben interpretarse dentro 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 interpretarse con cautela.

LIMITACIONES

1. La sangre almacenada puede dar lugar a reacciones más débiles que la sangre fresca.
2. 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 análisis, según se describen en la versión/edición actual de las «Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom» («Directrices para los servicios de

transfusión de sangre en el Reino Unido») y las especificaciones técnicas comunes.

2. La especificidad de los anticuerpos monoclonales fuente se demuestra utilizando un perfil de células antígeno-negativas.
3. El control de calidad del reactivo se llevó a cabo mediante el uso de hematíes con fenotipos que fueron verificados por un centro de transfusión de sangre del Reino Unido y que fueron lavados en PBS o solución salina isotónica antes de su uso.

EXENCIÓN DE RESPONSABILIDAD

1. El usuario es responsable del funcionamiento del reactivo 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 12.
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.

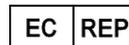
TAMAÑOS DE REACTIVOS DISPONIBLES

Tamaño del vial	Número de catálogo	Pruebas por vial
10 ml	760010	200
1000 ml	760000*	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