



## REACTIVOS MONOCLONALES PARA LA DETERMINACIÓN DE GRUPOS SANGUÍNEOS INSTRUCCIONES DE USO

### Anti-Fy<sup>a</sup> monoclonal: Para pruebas de antiglobulina indirecta.

#### RESUMEN

Los antígenos Fy<sup>a</sup> y Fy<sup>b</sup> se registraron en 1950 y 1951, respectivamente. Los antígenos Fy<sup>a</sup> y Fy<sup>b</sup> han estado involucrados en las reacciones hemolíticas transfusionales inmediatas y diferidas y en la enfermedad hemolítica del recién nacido.

Anti-Fy <sup>a</sup>	Anti-Fy <sup>b</sup>	Fenotipo	% raza blanca	% estadounidenses de raza negra
+	0	Fy(a+b-)	17	9
0	+	Fy(a-b+)	34	22
+	+	Fy(a+b+)	49	1
0	0	Fy(a-b-)	Muy poco frecuente	68

#### 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 Fy(a) (FY001) en los glóbulos rojos de donantes de sangre o pacientes que necesitan una transfusión de sangre cuando se evalúan de conformidad con las técnicas recomendadas establecidas en estas instrucciones de uso.

#### PRINCIPIO

En la fase de análisis de la antiglobulina, el reactivo provocará una aglutinación (agrupación) indirecta de glóbulos rojos que contienen el antígeno Fy(a). La ausencia de aglutinación suele indicar la ausencia del antígeno Fy(a) (véase **Limitaciones**).

#### REACTIVOS

Este reactivo monoclonal IgG para la determinación de grupos sanguíneos contiene anticuerpos monoclonales de seres humanos diluidos en un amortiguador de fosfato que contiene cloruro sódico y albúmina bovina. 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**.

Producto	Línea Celular/Clon
Anti-Fy <sup>a</sup>	DG-FYA-02

#### CONSERVACIÓN

No congelar. 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

- 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. Se debe tener precaución en el uso y eliminación de viales y su contenido.

#### ELIMINACIÓN DEL REACTIVO Y CÓMO ACTUAR EN CASO DE DERRAME

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 definir la idoneidad de los reactivos para su uso en otras técnicas.

#### REACTIVOS Y MATERIALES NECESARIOS

- Anticuerpos contra las globulinas humanas, es decir, Lorne AHG Elite (n.º de cat. 435010 o 415010) o anticuerpos contra la IgG, es decir, Lorne Anti-Human IgG (n.º de cat. 402010 o 401010).
- Lavador de células de Coombs.
- Tarjetas de identificación Bio-Rad (LISS/Coombs o anticuerpos IgG de Coombs).
- Centrifugadora ID Bio-Rad.
- Bio-Rad ID-CellStab o ID-Diluent 2.
- Incubadora Bio-Rad ID equilibrada a 37 °C ±2°.
- Tubos de ensayo de vidrio (10 x 75 mm o 12 x 75 mm).
- Hematíes sensibilizados con IgG; es decir, Lorne Coombs Control Cells (n.º de cat. 970010).
- Casete del sistema Ortho BioVue (AGH poliespecífica o AGH de anticuerpos IgG).
- Centrifugadora del sistema Ortho BioVue.
- Calentador de bloque del sistema Ortho BioVue equilibrado a 37 °C ±2 °C.
- Diluyente de glóbulos rojos Ortho 0,8 %.
- 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).
- Glóbulos rojos para controles positivos (heterocigóticos, si es posible) y negativos.
- Pipetas volumétricas.
- Baño de agua o incubadora de calor seco equilibrada a 37 °C ± 2 °C

#### TÉCNICAS RECOMENDADAS

##### A. Prueba de antiglobulina indirecta (IAT, por sus siglas en inglés)

- Preparar una suspensión de glóbulos rojos 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 glóbulos rojos una vez con PBS o solución salina isotónica, procurando decantar la solución salina después del lavado.
- Añadir 2 volúmenes de anticuerpos contra las globulinas humanas o anticuerpos IgG a cada sedimento.
- Mezclar minuciosamente y centrifugar todos los tubos durante 20 segundos a 1000 fcr o a una fuerza y tiempo alternativos adecuados.
- Volver a suspender cuidadosamente los sedimentos de eritrocitos y realizar un examen macroscópico para comprobar si hay aglutinación.
- Confirmar la validez de todas las reacciones negativas con glóbulos rojos sensibilizados con IgG.

## B. Técnica en Bio-Rad-ID (tarjetas LISS/Coombs)

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 de las tarjetas de identificación LISS/Coombs o anticuerpos IgG de Coombs que sean necesarios.
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 identificación LISS/Coombs durante 15 minutos a 37 °C.
5. Centrifugar la/s tarjeta/s de identificación LISS/Coombs en la centrifugadora Bio-Rad ID-Card.
6. Realizar un examen macroscópico para comprobar si hay aglutinación.

## C. Técnica en Ortho BioVue (casetes AGH)

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 de casetes AGH poliespecíficos o AGH de anticuerpos IgG que sean necesarias.
3. Añadir en la cámara de reacción correspondiente: 50 µl de la suspensión de glóbulos rojos y 40 µl del reactivo de Lorne.
4. Incubar el/los casete/s durante 15 minutos a 37 °C.
5. Centrifugar el/los casete(s) en una centrifugadora del sistema Ortho BioVue.
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 procedimiento del análisis, indica la presencia del antígeno adecuado en los glóbulos rojos.
2. **Negativo:** La ausencia de aglutinación de los glóbulos rojos constituye un resultado negativo y, dentro de las limitaciones aceptadas para el procedimiento del análisis, indica la ausencia del antígeno adecuado en los glóbulos rojos.

## ESTABILIDAD DE LAS REACCIONES

1. Los pasos de lavado deben completarse sin interrupción, y las pruebas deben centrifugarse e interpretarse inmediatamente después de la adición del reactivo. Los retrasos pueden suponer la disociación de los complejos antígeno-anticuerpo, 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. Los glóbulos rojos que tengan un resultado positivo en la PAD debido a un recubrimiento de IgG no se pueden tipificar mediante las **pruebas de antiglobulina indirecta**.
2. La expresión contenida o reducida de ciertos antígenos de grupos sanguíneos podría, por el contrario, dar lugar a reacciones que den un negativo falso, por lo que siempre se debe tener cuidado al asignar genotipos en función de los resultados de las pruebas.
3. También pueden darse resultados positivos falsos o negativos falsos 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 reactivo se analizó utilizando los métodos de análisis recomendados que figuran 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 originales 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 glóbulos rojos con fenotipos que fueron verificados por un centro de transfusión de sangre del Reino Unido y que se habían lavado con una 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 uso<sup>6</sup>.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Widman FK. Technical Manual, 9<sup>th</sup> Edition. American Association of Blood Banks, Arlington, VA, 1985; Chapter 8
2. Race RR, Sanger R. Blood Groups in Man, 6<sup>th</sup> Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1975; Chapter 2
3. Mollison PL. Blood Transfusion in Clinical Medicine, 8<sup>th</sup> Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1987; Chapter 7
4. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3<sup>rd</sup> Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6

5. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. H.M.S.O. Current Edition.
6. 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.

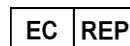
## TAMAÑOS DE REACTIVOS DISPONIBLES

	Tamaño del vial	Número de catálogo	Pruebas por vial
Anti-Fya monoclonal	2 ml	774002	40
	1000 ml	774000*	20000

\*Este tamaño es solo para fabricación posterior (FFMU, por sus siglas en inglés) 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