



REACTIVOS MONOCLONALES PARA LA DETERMINACIÓN DE GRUPOS SANGUÍNEOS INSTRUCCIONES DE USO

Anti-P₁ monoclonal: Para técnicas en tubo, Bio-Rad ID y Ortho BioVue.

RESUMEN

Landsteiner descubrió el antígeno P₁ en 1927. El anti-P₁ generalmente no reacciona por encima de la temperatura ambiente y, a menudo, puede pasar desapercibido en las pruebas habituales. El anti-P₁ no causa la enfermedad hemolítica del recién nacido y solo en contadas ocasiones se ha asociado con reacciones hemolíticas transfusionales.

| Anti-P ₁ | Fenotipo | Raza blanca ² | Estadounidenses de raza negra ² |
|---------------------|----------------|--------------------------|--|
| + | P ₁ | 79 % | 94 % |
| 0 | P ₂ | 21 % | 6 % |

USO PREVISTO

El reactivo es un reactivo que se utiliza para la determinación de grupos sanguíneos y tiene la finalidad de comprobar de manera cualitativa la presencia o ausencia de antígenos P₁ en los hematíes de donantes de sangre o pacientes que requieren una transfusión sanguínea, siempre que se utilice de conformidad con las técnicas recomendadas establecidas en estas instrucciones de uso.

PRINCIPIO

El reactivo contiene anticuerpos contra los antígenos P₁ en los hematíes humanos y provoca una aglutinación (agrupación) directa de los hematíes que portan el antígeno P₁. La ausencia de aglutinación (ausencia de agrupación) indica en general la ausencia del antígeno P₁ (ver **Limitaciones**).

REACTIVO

El reactivo monoclonal IgM anti-P₁ para la determinación de grupos sanguíneos de Lorne contiene anticuerpos monoclonales IgM murinos, preparados a partir de la línea celular clon 650, diluidos en una solución con cloruro de sodio y albúmina bovina. El reactivo no contiene ni está compuesto por sustancias CMR, ni por sustancias que alteren el funcionamiento del sistema endocrino, ni que puedan 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 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 de sangre pueden recogerse en EDTA 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 muestren indicios de lisis pueden dar lugar a resultados poco fiables. Es preferible (aunque no imprescindible) 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 caducado (ver 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 ha sido filtrado a través de cápsulas de 0,2 µm para reducir la carga biológica, pero no se suministra esterilizado. 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.
- 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

- Debe analizarse un control positivo (preferentemente en células P₁ débiles) y un control negativo en paralelo con cada lote de análisis. Los ensayos deben considerarse no válidos si los controles no muestran los resultados esperados.
- En las **Técnicas recomendadas**, un volumen equivale aproximadamente a 50 µl cuando se utiliza el cuentagotas del vial suministrado.
- La utilización del reactivo y la interpretación de los resultados deben llevarse a cabo por personal cualificado y formado de acuerdo a los requisitos del país donde se esté utilizando el reactivo.
- El usuario final 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 × 75 mm o 12 × 75 mm).
- Centrífuga que pueda girar a 1000 g durante 20 segundos.
- Solución salina tamponada con fosfato (PBS) (pH 6,8-7,2) o solución salina isotónica (pH 6,5-7,5).
- Hematíes de control positivo (preferentemente células P₁ débiles) y negativo.

Técnica de microtipificación en Bio-Rad ID

- Tarjetas ID de Bio-Rad (NaCl, ensayos enzimáticos y aglutininas frías).
- Centrífuga Bio-Rad.
- Bio-Rad ID-CellStab o ID-Diluent 2.

Técnica de tipificación en Ortho BioVue

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

Todas las técnicas

- Pipetas volumétricas.
- Refrigerador a 2-8 °C.

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 bien e incubar a 2-8 °C durante 15 minutos.
- Centrifugar los tubos durante 20 segundos a 1000 rcf o a una fuerza y tiempo alternativos adecuados.
- Volver a suspender cuidadosamente los sedimentos de hematíes y realizar un examen macroscópico para comprobar si hay aglutinación.

B. Técnica de microtipificación en Bio-Rad ID

- Preparar una suspensión de hematíes al 0,8 % en ID-CellStab o ID-Diluent 2.
- Retirar el papel de aluminio de los microtubos necesarios de la tarjeta de gel para ensayos de NaCl, ensayos enzimáticos y aglutininas frías.
- Introducir en el microtubo adecuado: 50 µl de la suspensión de hematíes y 25 µl de reactivo de Lorne.
- Incubar la tarjeta ID durante 15 minutos a 2-8 °C.
- Centrifugar la tarjeta ID en una centrífuga Bio-Rad ID.
- Realizar un examen macroscópico para comprobar si hay aglutinación.

C. Técnica de tipificación en Ortho BioVue

- Preparar una suspensión de hematíes al 0,8 % en diluyente de hematíes Ortho 0,8 %.
- Retirar el papel de aluminio de las cámaras de reacción necesarias.
- Añadir en la cámara de reacción correspondiente: 50 µl de la suspensión de hematíes y 40 µl de reactivo de Lorne.
- Incubar el/los casete/s durante 15 minutos a 2-8 °C.
- Centrifugar el/los casete(s) en una centrifugadora del sistema Ortho BioVue.
- Realizar un examen macroscópico para comprobar si hay aglutinación.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS

1. **Positivo:** La aglutinación de hematíes constituye un resultado positivo del ensayo y, dentro de las limitaciones aceptadas para el procedimiento del análisis, indica la presencia del antígeno P₁ en los hematíes.
2. **Negativo:** La ausencia de aglutinación de los hematíes constituye un resultado negativo y, dentro de las limitaciones aceptadas para el procedimiento del análisis, indica la ausencia del antígeno P₁ en los hematíes.

ESTABILIDAD DE LAS REACCIONES

1. Los análisis se deben leer inmediatamente tras la centrifugación. 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. El antígeno P₁ se expresa en niveles bajos en las células de los recién nacidos.
2. Existe una gran variación en la cantidad de antígeno P₁ presente en las diferentes células P₁ positivas. Es probable que la intensidad de la aglutinación observada en dichas células varíe en consecuencia.
3. La sangre almacenada puede dar lugar a reacciones más débiles que la sangre fresca.
4. 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 del anticuerpo monoclonal original 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 se habían lavado con una PBS o solución salina isotónica antes de su uso.

DESCARGO DE RESPONSABILIDAD







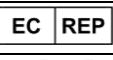


1. El usuario es responsable del funcionamiento del reactivo en cualquier otro método distinto de los mencionados en la sección **Técnicas recomendadas**.
2. Cualquier desviación de las **Técnicas recomendadas** debe validarse antes de su uso⁵.

BIBLIOGRAFÍA

1. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition, Montgomery Scientific, Miami, 1985, Capítulo 9.
2. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, Nueva York, 2007; p. 191.
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.

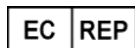
TAMAÑOS DE REACTIVOS DISPONIBLES

| Tamaño del vial | Número de catálogo | Pruebas por vial | Color |
|-----------------|--------------------|------------------|----------|
| 2 ml | 315002 | 40 | Incoloro |

| Símbolo | Definición | Símbolo | Definición |
|---|---|---|------------------------------------|
|  | Responsable de la fabricación |  | Número de catálogo |
|  | Límites de temperatura |  | Utilizar antes de YYYY-MM-DD |
|  | Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i> |  | Consultar las instrucciones de uso |
|  | Representante autorizado |  | Número de lote |
|  | Símbolo 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