



REACTIVOS PARA LA DETERMINACIÓN DE GRUPOS SANGUÍNEOS EN SERES HUMANOS INSTRUCCIONES DE USO

Anti-Fy^b policlonal: Para técnicas de antiglobulina indirecta.

RESUMEN

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

| Anti-Fy ^a | Anti-Fy ^b | Fenotipo | Raza blanca ¹ | Estadounidenses de raza negra ¹ |
|----------------------|----------------------|----------|--------------------------|--|
| + | 0 | Fy(a+b-) | 17 % | 9 % |
| 0 | + | Fy(a-b+) | 34 % | 22 % |
| + | + | Fy(a+b+) | 49 % | 1 % |
| 0 | 0 | Fy(a-b-) | 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^b (FY2) en los hematíes 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

El reactivo contiene anticuerpos contra el antígeno Fy^b en los hematíes de seres humanos y provocará una aglutinación (agrupación) indirecta de los hematíes de seres humanos que lleven el antígeno de Duffy^b correspondiente en la fase de antiglobulina de la prueba. La ausencia de aglutinación (ausencia de agrupación) suele indicar la ausencia del antígeno Duffy-b correspondiente (ver **Limitaciones**).

REACTIVOS

El reactivo anti-Fy^b para la determinación de grupos sanguíneos en seres humanos de Lorne se prepara a partir de suero humano diluido en una solución de cloruro sódico que contiene potenciadores macromoleculares (1,9 g %) y albúmina bovina. Los reactivos no contienen ni están compuestos de sustancias CMR, sustancias que alteran el funcionamiento del sistema endocrino ni sustancias que puedan 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, 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 pueden recogerse en anticoagulantes 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 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 frasco, el contenido debe permanecer viable hasta la fecha de caducidad.
- El plasma a partir del cual se fabrica este reactivo ya no está deslipidizado, por lo que es normal que el reactivo tenga un aspecto turbio.
- 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 los frascos 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**, que pueden obtenerse previa solicitud.

CONTROLES Y CONSEJOS

- Se utilizarán un control positivo (preferiblemente células heterocigóticas) y un control negativo para estudiar de forma paralela en cada lote de análisis. 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.
- Los reactivos contienen potenciadores macromoleculares que podrían producir reacciones que den un positivo falso con los hematíes sensibilizados con IgG; se recomienda que las células del paciente se analicen junto con el plasma del paciente para comprobar si hay reacciones que den un positivo falso.
- La mayoría de las peptidasas destruyen la reactividad del antígeno Fy^b.
- Antes de su uso, se debe 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 final 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 × 75 mm o 12 × 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, células de control de Coombs de Lorne (n.º de cat. 970010).
- Hematíes para controles positivos (heterocigóticos, si es posible) y negativos.
- Baño de agua o incubadora de calor seco equilibrada a 37 °C ± 2 °C

Técnica de microtipificación en Bio-Rad-ID

- Tarjetas de identificación Bio-Rad (LISS/Coombs o anticuerpos IgG de Coombs).
- Centrifugadora Bio-Rad Centrifuge.
- Bio-Rad ID-CellStab o ID-Diluent 2.
- Incubadora Bio-Rad ID equilibrada a 37 °C ± 2°C.

Técnica de tipificación en Ortho Biovue

- 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 hematíes Ortho 0,8 %.

Todas las técnicas

- Pipetas volumétricas.

TÉCNICAS RECOMENDADAS

A. Técnica de antiglobulina indirecta (IAT)

- 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 glóbulos rojos al menos 3 veces con PBS o solución salina isotónica, procurando decantar la solución salina entre lavados y volver a suspender los sedimentos de eritrocitos después de cada lavado. Decantar completamente la solución salina después del último lavado.
- Añadir 2 volúmenes de AGH Elite o anticuerpos contra la IgG a cada sedimento.

- 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 los sedimentos de hemáties y realizar un examen macroscópico para comprobar si hay aglutinación.
- Confirmar la validez de todas las reacciones negativas con hemáties sensibilizados con IgG.

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

- Preparar una suspensión de hemáties al 0,8 % en ID-CellStab o ID-Diluent 2.
- Retirar el papel de aluminio de los microtubos de las tarjetas de identificación LISS/Coombs o anticuerpos IgG de Coombs que sean necesarios.
- Añadir en el microtubo correspondiente: 50 µl de la suspensión de glóbulos rojos al 0,8 % y 25 µl del reactivo de Lorne.
- Incubar la(s) tarjeta(s) ID durante 15 minutos a 37 °C.
- Centrifugar la/s tarjeta/s ID en una centrífuga Bio-Rad-ID.
- Realizar un examen macroscópico para comprobar si hay aglutinación.

C. Técnica en Ortho BioVue (casete AGH)

- Preparar una suspensión de hemáties al 0,8 % en diluyente de hemáties Ortho al 0,8 %.
- Retirar el papel de aluminio de las cámaras de reacción de casetes AGH poliespecíficos o AGH de anticuerpos IgG que sean necesarias.
- Añadir en la cámara de reacción correspondiente: 50 µl de la suspensión de glóbulos rojos y 40 µl del reactivo de Lorne.
- Incubar el/los casete(s) durante 15 minutos a 37 °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

- 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 Duffy correspondiente en los glóbulos rojos.
- 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 Duffy correspondiente en los glóbulos rojos.

ESTABILIDAD DE LAS REACCIONES

- 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.
- Los resultados de los análisis realizados a temperaturas distintas de las aquí **recomendadas** deben interpretarse con cautela.

LIMITACIONES

- 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**.
- Este reactivo contiene potenciadores macromoleculares que podrían producir reacciones que den positivo falso con los glóbulos rojos sensibilizados con IgG. Por lo tanto, se recomienda que las células del paciente se analicen junto con el plasma del paciente para comprobar si hay reacciones que den positivo falso.
- Los anticuerpos dirigidos a antígenos de baja frecuencia podrían aparecer en forma de contaminantes insospechados en los antisueros de la determinación del grupo sanguíneo. Además, ciertos antígenos (p. ej., Bg, Sd^a) pueden estar presentes de manera relevante en los glóbulos rojos. Estos fenómenos podrían ser el origen de reacciones que den positivo falso infrecuentes y que pueden producirse con más de un lote para una determinada especificidad.
- No es posible afirmar la ausencia de todos los anticuerpos contaminantes, ya que los glóbulos rojos que transportan antígenos de baja frecuencia o antígenos relevantes no siempre están disponibles para analizarlos.
- La expresión contenida o reducida de ciertos antígenos de grupos sanguíneos podría, por el contrario, dar lugar a resultados negativos falsos, por lo que siempre se debe tener cuidado al asignar genotipos en función de los resultados de las pruebas.
- Es posible que se observe aglutinación falsa positiva cuando se realizan análisis con células sensibilizadas con IgG.
- Se pueden dar resultados positivos falsos debido a los potenciadores macromoleculares que están presentes en el reactivo.
- 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

- 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".
- La presencia de anticuerpos contaminantes en antígenos con una incidencia de un 1 % o más en la población aleatoria se ha excluido en las pruebas en las que se utilizan los glóbulos rojos antígeno-negativos correspondientes o

en pruebas en las que se utilizan los reactivos que habían sido absorbidos previamente para eliminar las especificidades interferentes.

- Es posible que no se excluyan los anticuerpos Xg^a, Do^a, Yt^a, Co^b, Wr^a, Bg^a y V^w de las pruebas de especificidad habituales y su detección dependerá de la disponibilidad de la célula de prueba correspondiente. Esto también es aplicable para los anticuerpos Yt^b, M^a y V^w y otros antígenos de baja frecuencia que podrían no excluirse de las pruebas de especificidad habituales; su detección dependerá de la disponibilidad de las células de prueba correspondientes.
- El control de calidad de los reactivos se llevó a cabo mediante el uso de hemáties 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

- 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 uso⁵.






BIBLIOGRAFÍA

- Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 183.
- Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6.
- AABB Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6th Edition 2002. The Stationary Office.
- 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

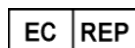
| | Tamaño del vial | Número de catálogo | Pruebas por vial |
|---------------------------------|-----------------|--------------------|------------------|
| Anti-Fy ^b policlonal | 2 ml | 317002 | 40 |

TABLA DE SÍMBOLOS

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