



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

Anti-Kp^a y anti-Kp^b policlonal: Para técnicas de antiglobulina indirecta.

RESUMEN

Los antígenos Kp^a y Kp^b se registraron en 1957 y 1958, respectivamente. Los antígenos del sistema de Kell se encuentran completamente desarrollados al nacer. Se ha relacionado los antígenos Kp^a y Kp^b con las reacciones hemolíticas transfusionales inmediatas y diferidas y con la enfermedad hemolítica del recién nacido.

Anti-Kp ^a	Anti-Kp ^b	Fenotipo	Raza blanca ¹	Estadounidenses de raza negra ¹
+	0	Kp(a+b-)	Poco frecuente	0 %
+	+	Kp(a+b+)	2,3 %	Poco frecuente
0	+	Kp(a-b+)	97,7 %	100 %
0	0	K ₀	Muy poco frecuente	Muy poco frecuente

USO PREVISTO

Los reactivos son utilizados para la determinación de grupos sanguíneos que tienen la finalidad de comprobar de manera cualitativa la presencia o ausencia de los antígenos Kp^a (KEL3) o Kp^b (KEL4) 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

Los reactivos contienen anticuerpos contra el antígeno Kp^a o Kp^b en los hematíes de seres humanos y provocan una aglutinación (agrupación) indirecta de los hematíes de seres humanos que portan el antígeno Kell correspondiente en la fase de antiglobulina de la prueba. La ausencia de aglutinación (ausencia de agrupación) indica en general la ausencia del antígeno Kell correspondiente (ver **Limitaciones**).

REACTIVOS

Los reactivos anti-Kell 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 (4,4 g %). Los reactivos no contienen ni están compuestos por sustancias CMR, ni por sustancias que alteren el funcionamiento del sistema endocrino, ni por sustancias que puedan provocar sensibilización o una reacción alérgica al usuario. Cada reactivo se suministra en la dilución óptima para su uso 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 frasco**.

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 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

- 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 han sido filtrados a través de cápsulas de 0,2 µm para reducir la carga biológica, pero no se suministran esterilizados. Una vez abierto el vial, el contenido debe mantenerse en buen estado 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 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**, 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 ensayos 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.
- 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.

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 tamponada 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 de control positivo (heterocigóticos, si es posible) y negativo.
- 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).
- Centrífuga Bio-Rad.
- 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).
- Centrífuga 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. Prueba de antiglobulina indirecta (IAT, por sus siglas en inglés)

- 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 4 veces con PBS o solución salina isotónica, teniendo cuidado de decantar la solución salina entre lavados y volver a suspender los botones de hematíes después de cada lavado. Decantar completamente la solución salina después del último lavado.
- Añadir 2 volúmenes de globulinas antihumanas o anticuerpos IgG a cada botón celular seco.
- 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 hematíes y realizar un examen macroscópico para comprobar si hay aglutinación.
- Confirmar la validez de todas las reacciones negativas con hematíes sensibilizados con IgG.

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 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 hematíes 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.

Técnica de tipificación en Ortho Biovue

- Preparar una suspensión de hematíes al 0,8 % en diluyente de hematíes 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 hematíes y 40 µl del reactivo de Lorne.
- Incubar el/los casete(s) durante 15 minutos a 37 °C.
- Centrifugar el/los casete(s) durante 5 minutos en una centrífuga del sistema Ortho BioVue.
- Realizar un examen macroscópico para comprobar si hay aglutinación.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

- Positivo:** La aglutinación de hematíes constituye un resultado positivo y, dentro de las limitaciones aceptadas para el procedimiento del análisis, indica la presencia del antígeno Kell correspondiente en los hematíes.
- 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 Kell correspondiente en los hematíes.

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 hematíes que tengan un resultado positivo en la DAT debido a un recubrimiento de IgG no se pueden tipificar mediante las **pruebas de antiglobulina indirecta**.
- 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 hematíes. 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 hematíes 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 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.
- También pueden darse resultados falsos positivos o falsos negativos 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 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".
- Se ha descartado la presencia de anticuerpos contaminantes en antígenos con una incidencia de un 1 % o superior en la población aleatoria, ya sea mediante pruebas en las que se utilizan los hematíes antígeno-negativos correspondientes, ya sea mediante pruebas en las que se han utilizado 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^b 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 hematíes con fenotipos verificados por un centro de transfusión sanguínea 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 uso².

BIBLIOGRAFÍA










- Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 186.
- 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-Kp ^a policlonal	2 ml	321002	40
Anti-Kp ^b policlonal	2 ml	322002	40

TABLA DE SÍMBOLOS

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, Swatara, BKR 4013, Malta