



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

### Anti-k (Cellano) monoclonal: Para técnicas de antiglobulina indirecta.

#### RESUMEN

El antígeno k (Cellano) se registró en 1949. Se ha relacionado el anti-k con las reacciones hemolíticas transfusionales y la enfermedad hemolítica del recién nacido.

Anti-K	Anti-k	Fenotipo	Raza blanca <sup>1</sup>	Raza negra <sup>1</sup>
+	0	K+k-	0,2 %	Poco frecuente
+	+	K+k+	8,8 %	2 %
0	+	K-k+	91,0 %	98 %

#### USO PREVISTO

El reactivo se utiliza para la determinación de grupos sanguíneos y tiene la finalidad de comprobar de manera cualitativa la presencia o ausencia del antígeno k (Cellano) 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 (Cellano) en los hematíes de seres humanos y provocará una aglutinación (agrupación) indirecta de los hematíes de seres humanos que porten el antígeno específico correspondiente en la fase de antiglobulina de la prueba. La ausencia de aglutinación (ausencia de agrupación) indica en general la ausencia del antígeno k (Cellano) (ver **Limitaciones**).

#### REACTIVOS

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

Producto	Línea Celular/Clon
Anti-k (Cellano)	P3A1180L67

#### 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 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 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 un 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 de los materiales**, 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.
- 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.
- El uso de los reactivos y la interpretación de los resultados se deben llevar a cabo por personal cualificado y debidamente formado de acuerdo con los requisitos del país donde se estén utilizando los reactivos.
- El usuario 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 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. 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 una vez con PBS o solución salina isotónica, procurando decantar completamente la solución salina después del lavado.
- Añadir 2 volúmenes de globulinas antihumanas o anti-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.

8. Confirmar la validez de todas las reacciones negativas con hematíes sensibilizados con IgG.

new techniques for blood grouping, antibody screening and cross matching. Transfusion Medicine, 1995, 5, 145-150.

## B. Técnica de microtipificación en Bio-Rad-ID

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 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 durante 15 minutos a 37 °C.
5. Centrifugar la/s tarjeta/s de identificación en la centrifugadora Bio-Rad ID-Card.
6. Realizar un examen macroscópico para comprobar si hay aglutinación.

## C. Técnica de tipificación en Ortho Biovue

1. Preparar una suspensión de hematíes al 0,8 % en diluyente de hematíes Ortho al 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 DE LOS ANÁLISIS

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 hematíes que tengan un resultado positivo en la DAT debido a un recubrimiento de IgG no se pueden tipificar por las **Técnicas 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 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

1. 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".
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 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

1. El usuario final es responsable del funcionamiento de los reactivos 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 uso<sup>5</sup>.





## BIBLIOGRAFÍA

1. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, Nueva York, 2007, p. 186.
2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3<sup>rd</sup> Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 13.
3. AABB Technical Manual, 16<sup>th</sup> edition, AABB 2008.
4. Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom, 6<sup>th</sup> Edition, 2002. The Stationary Office.
5. British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force. Recommendations for evaluation, validation and implementation of

## TAMAÑOS DE REACTIVOS DISPONIBLES

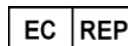
	Tamaño del vial	Número de catálogo	Pruebas por vial
Anti-k (cellano) monoclonal	2 ml	325002	40

## TABLA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Definición	Símbolo	Definición
	Responsable de la fabricación	<b>REF</b>	Número de catálogo
	Límites de temperatura		Utilizar antes de YYYY-MM-DD
<b>IVD</b>	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>		Consultar las instrucciones de uso
<b>EC REP</b>	Representante autorizado	<b>LOT</b>	Número de lote
<b>CE</b>	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, 2<sup>nd</sup> Flr.,  
Tower Street, Swatar, BKR 4013, Malta