



LORNE LABORATORIES LTD.

GRAN BRETAÑA

REACTIVOS MONOCLONALES PARA LA DETERMINACIÓN DE GRUPOS SANGUÍNEOS

INSTRUCCIONES DE USO

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

RESUMEN

Los antígenos del sistema de Lewis no forman parte integrante de la membrana de los hematíes, sino que los producen las células de los tejidos y se encuentran principalmente en el plasma y en las secreciones acuosas. Los hematíes adquieren los antígenos Lewis por absorción del plasma circundante. La cantidad de antígeno Lewis expresada en un hematíe puede variar en función del fenotipo ABO del hematíe. El anti-Le^a no se ha asociado con la enfermedad hemolítica del recién nacido, pero se han dado casos en los que el anti-Le^a ha provocado reacciones hemolíticas transfusionales.

Anti-Le ^a	Anti-Le ^b	Fenotipo	Raza blanca ¹	Estadounidenses de raza negra ¹
+	0	Le(a+b-)	22 %	23 %
0	+	Le(a-b+)	72 %	55 %
0	0	Le(a-b-)	6 %	22 %
+	+	Le(a+b+)	Poco frecuente	Poco frecuente

USO PREVISTO

Este reactivo se utiliza para la determinación de grupos sanguíneos y tiene la finalidad de comprobar cualitativamente la presencia o ausencia de los antígenos Le^a (LE1) 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 los antígenos Le^a en los hematíes humanos y provoca una aglutinación (agrupación) directa de los hematíes que portan el antígeno Le^a, tras la centrifugación. La ausencia de aglutinación (ausencia de agrupación) indica en general la ausencia del antígeno Le^a (ver **Limitaciones**).

REACTIVOS

Este reactivo monoclonal anti-Le^a para la determinación de grupos sanguíneos de Lorne contiene anticuerpos monoclonales IgM humanos, diluidos en un tampón de fosfato con cloruro sódico, EDTA, albúmina bovina y un potenciador macromolecular (2,5 g %). El anti-Le^a se fabrica con el clon P3N20V3. 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**.

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 esencial (ver el apartado "Limitaciones") 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.
- 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 viales 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

- Se utilizarán un control positivo y un control negativo en paralelo con cada lote de análisis. Los análisis deben considerarse no válidos si los controles no muestran los resultados esperados.
- Durante el tipado de hematíes de un paciente con diagnóstico de una enfermedad que provoca que los hematíes se recubran con anticuerpos u otras proteínas (como HDN, AIHA), es importante evaluar los hematíes del paciente con el control negativo del reactivo de Lorne (control monoclonal Rh [n.º de catálogo 640010]).
- 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 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 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 amortiguada con fosfato (PBS) (pH 6,8-7,2) o solución salina isotónica (pH 6,5-7,5).
- Hematíes para control positivo (Le^{a+}) y negativo (Le^{a-}).

Técnica de microtipificación en Bio-Rad-ID

- Tarjetas Bio-Rad ID Cards (NaCl, ensayo enzimático y aglutininas frías).
- Centrifugadora Bio-Rad Centrifuge.
- 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.

TÉCNICA RECOMENDADA

A. Técnica en tubo

- Preparar una suspensión del 2-3 % de hematíes lavados en PBS o solución salina isotónica.
- Añadir en un tubo de ensayo etiquetado: 1 volumen de reactivo Lewis de Lorne y 1 volumen de la suspensión de hematíes.
- Mezclar minuciosamente e incubar a temperatura ambiente 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 lavados al 0,8 % en ID-CellStab o ID-Diluent 2.
- Retirar el papel de aluminio de los microtubos necesarios de una tarjeta ID para NaCl/ensayo enzimático/aglutininas frías.
- 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 temperatura ambiente.
- Centrifugar la/s tarjeta/s ID en una centrifuga Bio-Rad-ID.
- Realizar un examen macroscópico para comprobar si hay aglutinación.

C. Técnica de tipificación en Ortho Biovue

1. Preparar una suspensión de glóbulos rojos lavados al 0,8 % en diluyente de glóbulos rojos de Ortho al 0,8 %.
2. Retirar el papel de aluminio de las cámaras de reacción necesarias del casete neutro.
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 temperatura ambiente.
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 presencia de aglutinación de hematíes constituye un resultado positivo y, dentro de las limitaciones aceptadas del procedimiento del ensayo, indica la presencia del antígeno Le^a en los hematíes.
2. **Negativo:** La ausencia de aglutinación de hematíes constituye un resultado negativo y, dentro de las limitaciones aceptadas del procedimiento del ensayo, indica la ausencia del antígeno Le^a en los hematíes.
3. **Control:** Se deben excluir los resultados de las pruebas de células que se aglutinen con el control negativo del reactivo, ya que la aglutinación más probablemente es causada por el efecto de los potenciadores macromoleculares del reactivo en células sensibilizadas.

ESTABILIDAD DE LAS REACCIONES

1. Los análisis realizados en tubos 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. Los reactivos Lewis de Lorne solo deben utilizarse con hematíes lavados suspendidos en solución salina fisiológica, ya que los antígenos Lewis están presentes en el plasma. No se pueden utilizar células suspendidas en plasma o suero, ya que el antígeno soluble presente podría neutralizar el reactivo de la prueba, lo que da lugar a falsos negativos.
2. Los hematíes de la mayoría de los recién nacidos se tipificarán como Le^(a-b-) con reactivos monoclonales o anti-Lewis humanos, aunque algunas muestras producirán reacciones positivas débiles en pruebas directas de antiglobulina con anti-Lea monoclonal murino.
3. Los fenotipos Lewis de los niños menores de seis años no pueden determinarse con precisión. Los antígenos Lewis de los hematíes son más débiles durante el embarazo.
4. La sangre almacenada puede dar lugar a reacciones más débiles que la sangre fresca.
5. 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 sin antígeno
3. El control de calidad de los reactivos 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 final es responsable del funcionamiento de los reactivos en cualquier otro método distinto de los mencionados en la sección **Técnica recomendada**.
2. Cualquier desviación de la **técnica recomendada** debe validarse antes de su uso⁶.

BIBLIOGRAFÍA

1. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 189.
2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 7.
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

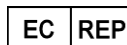
	Tamaño del vial	Número de catálogo	Pruebas por vial
Anti-Le ^a monoclonal	2 ml	632002	40

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
CE	Símbolo CE verificado por un organismo notificado		



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