



REACTIVOS MONOCLONALES PARA LA DETERMINACIÓN DE GRUPOS SANGUÍNEOS
INSTRUCCIONES DE USO

Anti-C+D+E monoclonal: Para técnicas en tubo, Bio-Rad-ID, Ortho BioVue, microplaca y portaobjetos.

RESUMEN

En 1940, Levine y Stetson descubrieron el sistema del grupo sanguíneo Rh. Además del antígeno D, los otros antígenos principales de Rh son C, E, c y e. El antígeno D es altamente inmunogénico. Los antígenos C y e son menos inmunogénicos que E y c. Los anticuerpos correspondientes son todos clínicamente significativos dado que estos antígenos pueden causar tanto reacciones transfusionales como enfermedad hemolítica del recién nacido.

HAPLOTIPO DE WIENER MODIFICADO	PREVALENCIA (%)		
	RAZA BLANCA	RAZA NEGRA	ASIÁTICOS
R ₁	42	17	70
R ₂	14	11	21
R ₀	4	44	3
R _z	<0,01	<0,001	1
r	37	26	3
r ^r	2	2	2
r ^{r'}	1	<0,01	<0,01
r ^{r''}	<0,01	<0,01	<0,01

USO PREVISTO

El reactivo se utiliza para la determinación de grupos sanguíneos y tiene la finalidad de comprobar cualitativamente la presencia o ausencia del antígeno C (RH2) y/o D (RH1) y/o E (RH3) 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 C, D y E en los hematíes humanos y provocará una aglutinación (agrupación) directa de los hematíes humanos que porten los antígenos C y/o D y/o E. La ausencia de aglutinación (ausencia de agrupación) indica en general la ausencia del antígeno Rh correspondiente (ver **Limitaciones**).

REACTIVOS

El reactivo monoclonal anti-C+D+E para la determinación de grupos sanguíneos es un reactivo con bajo contenido en proteínas que contiene anticuerpos monoclonales humanos dirigidos contra los antígenos C, D y E del sistema Rh. El reactivo no contiene ni está compuesto por sustancias CMR, ni por sustancias que alteren el funcionamiento del sistema endocrino, ni por sustancias que puedan causar 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 vial**.

Anti-C+D+E monoclonal	RUM-1	Línea celular de hibridoma secretora de IgM humana
	MS-24	Línea celular de hibridoma secretora de IgM humana
	MS-258	Línea celular de hibridoma secretora de IgM humana

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 su uso y el traslado (a 37 °C y -25 °C), según lo descrito en el documento BS EN ISO 23640:2015. Según los estudios de estabilidad durante el uso de los reactivos, una vez abiertos los viales, el contenido debería mantenerse viable hasta la fecha de caducidad, siempre y cuando no haya una turbidez evidente, lo que podría indicar un deterioro o contaminación del reactivo.

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, las muestras deben conservarse a 2-8 °C. Las muestras de sangre con EDTA o coaguladas pueden conservarse hasta 1 día después de la extracción a temperatura ambiente y hasta 21 días en refrigeración (2-8 °C). No deben analizarse las muestras que exhiban 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 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 <0,1 % de azida sódica (NaN₃). La azida sódica puede ser tóxica si se ingiere y puede reaccionar con el cobre o plomo de las tuberías para formar azidas metálicas explosivas. Al eliminar el producto, hacerlo con abundante agua.
- Los materiales utilizados para producir los productos se probaron en origen y se determinó que son negativos para los anticuerpos contra el VIH 1 + 2 y 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 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 (preferiblemente heterocigoto) 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.
- Al realizar la tipificación de los hematíes de un paciente, es importante incluir un control negativo del reactivo (Mono Rh Control, número de catálogo de Lorne 640010), ya que los potenciadores macromoleculares presentes en el reactivo pueden provocar reacciones falsas positivas con hematíes recubiertos de IgG.
- Las técnicas en tarjetas de gel, placas de microtitulación y portaobjetos pueden no detectar de manera eficaz los antígenos Rhesus débiles. Se recomienda que los antígenos Rhesus débiles se estudien con la técnica de la prueba en tubo.
- 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 las **técnicas recomendadas**, un volumen equivale aproximadamente a 50 µl cuando se utiliza el gotero 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 dichos 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

- Tubos de ensayo de vidrio (10 x 75 mm o 12 x 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 de control positivo (idealmente R₁r) y negativo (rr).

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 %.

Técnica en placa de microtítulo

- Placas de microtítulo de pocillos "U" validadas.
- Centrífuga para placas microtítulo.
- Agitador para placas microtítulo.

Técnica en portaobjetos

- Portaobjetos de vidrio para microscopio o placas de cerámica blancas.
- Varillas para aplicación.
- Temporizador o cronómetro

Todas las técnicas

- Pipetas volumétricas.

TÉCNICAS RECOMENDADAS

A. Técnica en tubo

- Preparar una suspensión de hematíes al 2-3 % en PBS o solución salina isotónica.
- Añadir en un tubo de ensayo etiquetado: 1 volumen de reactivo Lorne Anti-Rh y 1 volumen de la suspensión de hematíes.
- 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.
- Cualquier tubo que muestre un resultado negativo o cuestionable, debe ser incubado durante 15 minutos a temperatura ambiente.
- Tras la incubación, repetir los pasos 3 y 4.

B. Técnica en Bio-Rad ID (tarjetas de NaCl, ensayo enzimático y aglutininas frías)

1. Preparar una suspensión de hematíes al 0,8 % en ID-CellStab o ID-Diluent 2.
2. Retirar el papel de aluminio de tantos microtubos de una tarjeta de NaCl, ensayo enzimático
3. y aglutininas frías como sea necesario.
4. Añadir en el microtubo correspondiente: 50 µl de la suspensión de hematíes y 25 µl del reactivo Anti-Rh de Lorne.
5. Centrifugar la(s) tarjeta(s) ID en la centrífuga Bio-Rad ID.
6. Realizar un examen macroscópico para comprobar si hay aglutinación.

C. Técnica en Ortho BioVue (casetes neutros)

1. Preparar una suspensión de hematíes al 0,8 % en diluyente de hematíes Ortho 0,8 %.
2. Retirar el papel de aluminio de las cámaras de reacción necesarias de un casete neutro.
3. Añadir en la cámara de reacción correspondiente: 50 µl de la suspensión de hematíes y 40 µl del reactivo Lorne Anti-Rh.
4. Centrifugar el/los casete(s) durante 5 minutos en una centrífuga del sistema Ortho BioVue.
5. Realizar un examen macroscópico para comprobar si hay aglutinación.

D. Técnica en placa de microtitulación con pocillos «U»

0. Preparar una suspensión de hematíes al 2-3 % en PBS o solución salina isotónica.
1. Añadir en el pocillo correspondiente: 1 volumen de reactivo Lorne Anti-Rh y 1 volumen de la suspensión de hematíes.
2. Mezclar minuciosamente, preferiblemente con un agitador para microplacas, procurando evitar cualquier contaminación cruzada.
3. Incubar a temperatura ambiente durante 15 minutos (tiempo en función del usuario).
4. Centrifugar la microplaca durante 1 minuto a 140 rcf o a una fuerza y tiempo alternativos adecuados.
5. Volver a suspender los sedimentos celulares mediante una agitación cuidadosamente controlada en un agitador para microplacas.
6. Leer macroscópicamente o con un lector automático validado.
7. Cualquier reacción débil debe ser repetida con la técnica en tubo.

E. Técnica en portaobjetos

1. Preparar una suspensión de hematíes al 35-45 % en suero, plasma, PBS o solución salina isotónica. Si esto no es posible, también puede utilizarse sangre total anticoagulada como muestra.
2. Colocar en un portaobjetos de vidrio o placa etiquetado/a: 1 volumen de reactivo Anti-Rh de Lorne y un volumen de la suspensión de hematíes.
3. Mezclar el reactivo y las células con una varilla limpia en un área de unos 20 x 40 mm.
4. Inclinar lentamente el portaobjetos hacia atrás y hacia delante durante 1 minuto, manteniendo el portaobjetos a temperatura ambiente.
5. Realizar un examen macroscópico después de 1 minuto con luz difusa y no confunda las fibras de fibrina con la aglutinación.
6. Cualquier reacción débil debe ser repetida con la técnica en tubo.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS

1. **Positivo:** La aglutinación constituye un resultado positivo y, dentro de las limitaciones aceptadas para el procedimiento del análisis, indica la presencia del antígeno Rh correspondiente en los hematíes.
2. **Negativo:** La ausencia de aglutinación constituye un resultado negativo y, dentro de las limitaciones aceptadas para el procedimiento del análisis, indica la ausencia del antígeno Rh correspondiente en los hematíes.
3. **Control:** La reacción puede interpretarse si los resultados obtenidos con las muestras control son válidos. Se deben excluir los resultados de las pruebas de células que se aglutinen con el Monoclonal Rh Control (ref. 640010), ya que es probable que la aglutinación esté causada por el efecto de los potenciadores macromoleculares del reactivo en células sensibilizadas.

ESTABILIDAD DE LAS REACCIONES

1. Leer los análisis realizados en microplacas y tubos inmediatamente tras la centrifugación.
2. Los análisis en portaobjetos deben interpretarse en el plazo de un minuto a fin de garantizar la especificidad y evitar la posibilidad de que un resultado negativo se interprete incorrectamente como positivo debido al secado del reactivo.
3. Los resultados de los análisis realizados a temperaturas distintas de las aquí recomendadas deben ser interpretados con cautela.

LIMITACIONES

1. Los reactivos Anti-Rh de Lorne no son adecuados para su uso con células tratadas enzimáticamente o en técnicas de antiglobulina indirecta.
2. Algunos hematíes expresan variantes de antígenos Rh y pueden dar lugar a reacciones más débiles de las observadas en células de control positivas seleccionadas aleatoriamente. Anti-C puede generar reacciones más débiles con el antígeno C de individuos R₂R₂. De forma similar, Anti-e puede provocar reacciones sensiblemente más débiles en ausencia del antígeno C, p. ej., R₂r, r'r y rr.
3. La supresión o disminución de la expresión de ciertos antígenos de grupos sanguíneos puede, inversamente, dar lugar a reacciones falsas negativas. Por estos motivos, debe realizarse con cautela la asignación de genotipos en base a los resultados del análisis.
4. El anticuerpo monoclonal anti-C+D+E (REF:700010) no está validado para detectar antígenos Rh distintos de los antígenos eritrocitarios humanos D (RH1), C (RH2) y E (RH3). Asimismo, el reactivo monoclonal anti-C+D+E no está validado para fenotipos D y DVI débiles, ya que la combinación de D débil y/o DVI con antígenos C y E negativos al mismo tiempo es extremadamente rara. Para detectar D y/o DVI débiles, se deben utilizar los reactivos monoclonales anti-D adecuados de Lorne, de acuerdo con las instrucciones de uso del fabricante.
5. El reactivo monoclonal anti-C+D+E (REF:700010) no está validado para detectar la variante Rhmod.
6. Se ha demostrado que muchos anticuerpos monoclonales humanos IgM anti-Rh poseen actividad de aglutininas frías anti-i/I, especialmente con células de cordón umbilical o células tratadas con enzimas. Esto puede hacerse evidente si las pruebas se incuban a una temperatura inferior a la recomendada.
7. 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 este reactivo se evalúa con los métodos de análisis recomendados descritos 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 fuente 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.
4. El rendimiento de los reactivos se confirmó mediante un estudio comparativo frente a reactivos para IVD marcados con CE de eficacia comprobada, en el que los reactivos fueron evaluados en paralelo con todos los métodos recomendados. Los resultados del análisis estadístico global del estudio se muestran a continuación:

	Método	N	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
Anti-C+D+E	Tubo de ensayo	1047	99,9 %	98,5 %	99,6 %	99,5 %
	Ortho	1251	99,9 %	99,6 %	99,9 %	99,6 %
	Bio-Rad	1047	99,8 %	99,5 %	99,9 %	99,0 %
	Microplaca	1047	99,6 %	99,0 %	99,8 %	98,5 %
	Portaobjetos	1027	99,6 %	100,0 %	100,0 %	98,5 %

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 uso⁶.





BIBLIOGRAFÍA

1. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition, Montgomery Scientific, Miami, 1985, Capítulo 10.
2. AABB Technical Manual, 16th edition, AABB 2008.
3. Jones J, Scott ML, Voak D. Monoclonal anti-D specificity and Rh D structure: criteria for selection of monoclonal anti-D reagents for routine typing of patients and donors. Transfusion Medicine 1995, 5, 171-184
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-C+D+E monoclonal	10 ml	700010	200

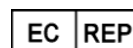
TABLA DE SÍMBOLOS

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		



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