



REACTIVOS MONOCLONALES PARA LA DETERMINACIÓN DE GRUPOS SANGUÍNEOS INSTRUCCIONES DE USO

Anti-C^w monoclonal: Para técnicas en tubo, Bio-Rad-ID, Ortho BioVue y portaobjetos.

RESUMEN

En 1940, Levine y Stetson descubrieron el sistema del grupo sanguíneo Rh. Además del antígeno D, los otros antígenos Rh principales son C, E, c y e. El antígeno C^w es uno de los más raros, pero el anticuerpo anti-C^w es bastante frecuente. Todos los anticuerpos Rh son clínicamente relevantes, ya que pueden provocar tanto reacciones transfusionales como la enfermedad hemolítica del recién nacido.

| Antígeno Rh | Caucásicos ² | Raza negra ² | Finlandeses ² | Letones ² |
|----------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|----------------------|
| C ^w | 2 % | 1 % | 4 % | 9 % |

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 C^w 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

Este reactivo contiene anticuerpos contra el antígeno C^w en los hematíes humanos y provoca una aglutinación (agrupación) directa de los hematíes que portan el antígeno C^w tras la centrifugación. La ausencia de aglutinación (ausencia de agrupación) indica en general la ausencia del antígeno C^w (ver **Limitaciones**).

REACTIVOS

El reactivo monoclonar anti-C^w para la determinación de grupos sanguíneos de Lorne es un reactivo que contiene un anticuerpo IgM monoclonal humano, diluido en un tampón de fosfato con cloruro sódico (0,6 g %), albúmina bovina (6 g %) y un conservante. 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 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 EDTA, anticoagulantes 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 (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 esterilizados. Una vez abierto el vial, el contenido debe mantenerse en buen estado hasta la fecha de caducidad, siempre y cuando no haya una turbidez evidente, lo que podría indicar un deterioro o contaminación del reactivo.
- 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 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.
- Los antígenos C^w débiles pueden ser mal detectados por la técnica de portaobjetos. Se recomienda que los antígenos C^w débiles se analicen mediante la técnica en tubo.
- 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 D negativo [n.º de catálogo 650010]).
- En las **Técnicas recomendadas**, un volumen equivale aproximadamente a 50 µl cuando se utiliza el cuentagotas del vial suministrado.
- El uso de los reactivos y la interpretación de los resultados deben ser llevados a cabo por personal debidamente formado y cualificado de acuerdo con los requisitos del país en el que se utilice el reactivo.
- 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 × 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 de control positivo (heterocigóticos, si es posible) y negativo.

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 etiquetado: 1 volumen de reactivo de Lorne y 1 volumen de la suspensión de hematíes.
- 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 tipificación en Ortho BioVue (tarjetas neutras)

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 necesarias de los casetes neutros.
3. Añadir en la cámara de reacción correspondiente: 50 µl de la suspensión de glóbulos rojos y 40 µl del reactivo de Lorne.
4. Centrifugar el/los casete/s en una centrifugadora Ortho BioVue.
5. Realizar un examen macroscópico para comprobar si hay aglutinación.

C. 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 necesarios de la/s tarjeta/s ID de NaCl, ensayos enzimáticos y aglutininas frías.
3. Añadir en el microtubo correspondiente: 50 µl de la suspensión de glóbulos rojos y 25 µl del reactivo de Lorne.
4. Centrifugar la/s tarjeta/s ID en una centrifuga Bio-Rad-ID.
5. Realizar un examen macroscópico para comprobar si hay aglutinación.

D. Técnica en microplacas con pocillos "U"

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

D. Técnica en portaobjetos

1. Preparar una suspensión de eritrocitos al 35-45 % en suero, plasma, PBS o solución salina isotónica. Si no es posible, también puede utilizarse sangre completa anticoagulada como muestra.
2. Colocar en un portaobjetos de vidrio o tarjeta etiquetado/a: 1 volumen de reactivo de Lorne y 1 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 delante y hacia atrás durante 1 minuto.
5. Realizar un examen macroscópico después de un minuto sobre una luz difusa y no confundir las fibras de fibrina con la aglutinación.
6. Cualquier reacción débil debe ser repetida con la técnica en tubo.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

1. **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 C^w en los hematíes.
2. **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 C^w 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 deben leerse inmediatamente después de la centrifugación. Los retrasos pueden suponer la disociación de los complejos antígeno-anticuerpo, lo que provoca resultados falsos negativos o positivos débiles.
2. Las pruebas en portaobjetos deben interpretarse en el plazo de un minuto para garantizar la especificidad y evitar la posibilidad de que un resultado negativo pueda interpretarse 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. Se ha demostrado que muchos anticuerpos monoclonales IgM Rh humanos 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.
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 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 de los reactivos se llevó a cabo mediante el uso de hematíes con fenotipos que fueron verificados por un centro de transfusión sanguínea 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 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 uso⁴.

BIBLIOGRAFÍA

1. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition, Montgomery Scientific, Miami, 1985, Chapter 10.
2. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, Nueva York, 2007; p. 31.
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

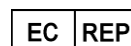
| | Tamaño del vial | Número de catálogo | Pruebas por vial |
|--------------------------------|-----------------|--------------------|------------------|
| Anti-C ^w monoclonal | 2 ml | 750002 | 40 |

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 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