



REACTIVOS MONOCLONALES PARA LA DETERMINACIÓN DE GRUPOS SANGUÍNEOS INSTRUCCIONES DE USO

Anti-K monoclonal: Para técnicas en tubo, Bio-Rad-ID, Ortho BioVue, microplaca y portaobjetos.

RESUMEN

El antígeno K se registró en 1946. El antígeno se encuentra totalmente desarrollado al nacer y puede ser altamente inmunogénico. Se ha relacionado el anti-K con las reacciones hemolíticas transfusionales y con la enfermedad hemolítica del recién nacido.

Anti-K	Anti-k	Fenotipo	Caucásicos ¹	Estadounidenses de raza negra ¹
+	0	K+k-	0,2 %	Poco frecuente
+	+	K+k+	8,8 %	2 %
0	+	K-k+	91 %	98 %
0	0	Ko	Muy poco frecuente	

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 Kell (KEL1) 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 en los hematíes humanos y provoca una aglutinación (agrupación) directa de los hematíes que portan el antígeno Kell. La ausencia de aglutinación (ausencia de agrupación) indica en general la ausencia del antígeno Kell (ver **Limitaciones**).

REACTIVO

El reactivo monoclonal anti-K para la determinación de grupos sanguíneos de Lorne es un reactivo escasamente proteico que contiene el anticuerpo monoclonal IgG, clon MS-56, diluido en un tampón de fosfato con cloruro sódico, albúmina bovina y potenciadores macromoleculares (4,0 g %). El reactivo no contiene ni está compuesto por sustancias CMR, ni por sustancias que alteren el funcionamiento del sistema endocrino, ni 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**.

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

- El reactivo es solo para uso en diagnóstico *in vitro*.
- Si el vial del reactivo está roto o agrietado, descartar inmediatamente su contenido.
- No utilizar el reactivo caducado (ver la **etiqueta del vial**).
- No utilizar el reactivo si presenta precipitado.
- La manipulación de los reactivos debe realizarse con la apropiada indumentaria de protección, tales como guantes desechables y bata de laboratorio.
- El reactivo ha sido filtrado a través de cápsulas de 0,2 µm para reducir la carga biológica, pero no se suministra esterilizado. 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.
- Los materiales utilizados para producir el reactivo 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.
- Durante el tipado 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 falsos positivos con hematíes recubiertos de IgG.
- Las técnicas en tarjetas de gel, placas de microtitulación y portaobjetos pueden no detectar de manera eficaz los antígenos K débiles. Se recomienda que los antígenos K 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 los reactivos.
- El usuario final 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 de control positivo (heterocigóticos, Kk) y negativo (kk).

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

- Casetas 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.
- Mezclar bien 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 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 hematíes 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.

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 del/de los casete/s neutro/s.
3. Añadir en la cámara de reacción correspondiente: 50 µl de la suspensión de hematíes y 40 µl del reactivo de Lorne.
4. Centrifugar el/los casete(s) en una centrifugadora del sistema Ortho BioVue.
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 la 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.

E. 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 aplicadora limpia en un área de unos 20 × 40 mm.
4. Inclinar lentamente el portaobjetos de atrás a delante durante 1 minuto, manteniendo el portaobjetos a temperatura ambiente.
5. Realizar un examen macroscópico después de un minuto con 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 DE LOS ANÁLISIS

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 K 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 K en los hematíes.
3. Se deben excluir los resultados de las pruebas de células que se aglutinen con el control negativo del reactivo, ya que la aglutinación está causada muy probablemente 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. La sangre almacenada puede dar lugar a reacciones más débiles que la sangre fresca.
2. 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 análisis, según se describen en la versión/edición actual de las «Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom» («Directrices para los servicios de transfusión de sangre en el Reino Unido») y las especificaciones técnicas comunes.

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.

DESCARGA 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. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 186.
2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 12.
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
10 ml	760010	200

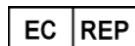
TABLA DE SÍMBOLOS

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
	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