

REACTIVOS MONOCLONALES PARA LA DETERMINACIÓN DE GRUPOS SANGUÍNEOS
INSTRUCCIONES DE USO

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

RESUMEN

El antígeno M forma parte del sistema MNS y se registró por primera vez en 1927. La expresión del antígeno M en los hematíes puede presentar efecto de dosis. Los anticuerpos anti-M rara vez han estado involucrados en la enfermedad hemolítica del recién nacido o las reacciones hemolíticas transfusionales.

Anti-M	Anti-N	Fenotipo	Raza blanca ¹	Estadounidenses de raza negra ¹
+	0	M+N-	28 %	25,4 %
+	+	M+N+	50 %	48,4 %
0	+	M-N+	22 %	26,7 %

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

REACTIVOS

El reactivo monoclonal anti-M para la determinación de grupos sanguíneos de Lorne es un reactivo que contiene un anticuerpo monoclonal IgG murino (clon n.º LM110/140), diluido en un amortiguador de fosfato con cloruro sódico (0,6 g %), albúmina bovina (4,0 g %) y un conservante. El reactivo no contiene ni está compuesto de sustancias CMR, sustancias que alteran el funcionamiento del sistema endocrino o sustancias 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 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 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 preferible (aunque no esencial) lavar todas las muestras de sangre con solución salina no taponada 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. 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.
- Al realizar la tipificación 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 de Lorne (n.º de catálogo 650010). Los análisis deben considerarse no válidos si los hematíes se aglutinan con el control negativo de Lorne.
- 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 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 final debe determinar la idoneidad de los reactivos para su uso en otras técnicas.

REACTIVOS Y MATERIALES NECESARIOS, PERO NO SUMINISTRADOS

Técnica en tubo

- Centrífuga que pueda girar a 1000 g durante 20 segundos.
- Tubos de ensayo de vidrio (10 × 75 mm o 12 × 75 mm).
- Hematíes para controles positivos (preferentemente M+N+) y negativos (N+N+).

Técnica de microtipificación en Bio-Rad ID

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

Técnica de tipificación en Ortho BioVue

- Casetes del sistema Ortho BioVue (neutros).
- Centrifugadora del sistema Ortho BioVue.

Técnica en placa de microtítulo

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

Todas las técnicas

- Pipetas volumétricas.
- Solución salina sin amortiguador.

TÉCNICAS RECOMENDADAS

A. Técnica en tubo

- Preparar una suspensión de hematíes al 2-3 % en solución salina sin amortiguador (**ver Limitaciones**).
- 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)

- Preparar una suspensión de hematíes al 0,8 % en solución salina sin amortiguador (**ver Limitaciones**).
- Retirar el papel de aluminio de las cámaras de reacción necesarias de los casetes neutros.
- Añadir en la cámara de reacción correspondiente: 50 µl de la suspensión de glóbulos rojos y 40 µl del reactivo de Lorne.
- Centrifugar el/los casete/s en una centrifugadora Ortho BioVue.
- 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 solución salina sin amortiguador (**ver Limitaciones**).
2. Retirar el papel de aluminio de los microtubos necesarios de la/s tarjeta/s ID de NaCl, ensayo enzimático 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 centrífuga Bio-Rad ID.
5. Realizar un examen macroscópico para comprobar si hay aglutinación.

D. Técnica en placa de microtítulo con pocillos "U"

1. Preparar una suspensión de hematíes al 2-3 % en solución salina sin amortiguador (**ver Limitaciones**).
2. Añadir en el pocillo correspondiente: 1 volumen de reactivo de Lorne y 1 volumen de suspensión de hematíes.
3. Mezclar minuciosamente, 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.

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 M 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 M en los hematíes.

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. Los resultados de los análisis realizados a temperaturas distintas de las aquí recomendadas deben ser interpretados con cautela.

LIMITACIONES

1. Este reactivo reacciona de forma óptima con los antígenos M a un pH de 8,5. Aunque el reactivo contiene un tapón ideal para este pH, deben respetarse los siguientes puntos:
 - Las suspensiones de eritrocitos en medios taponados (por ejemplo, Alsevers) deben lavarse al menos 3 veces en solución salina no taponada antes de su utilización.
 - El uso de medios taponados para lavar o hacer suspensiones de eritrocitos puede dar resultados espurios y debe evitarse.
 - No debe utilizarse solución salina no taponada con un pH inferior a 6 para lavar o hacer suspensiones de eritrocitos.
2. No deben utilizarse células modificadas por enzimas proteolíticas, ya que los antígenos MN podrían haberse destruido.
3. 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 fenotipos en función de los resultados de las pruebas.
4. 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 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 solución salina sin amortiguador 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 uso⁶.

BIBLIOGRAFÍA










1. Marion E.Reid & Christine Lomas-Francis, Blood Group Antigens & Antibodies, SBB Books, New York 2007; Page 190.

2. Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 14.
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-M monoclonal	2 ml	772002	40

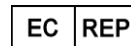
TABLA DE SÍMBOLOS

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