

REACTIVOS MONOCLONALES DE AGRUPACIÓN DE SANGRE
INDICACIONES DE USO

Anti-A, Anti-B and Anti-A, B Monoclonal:

Para técnicas con tubo, DiaMed-ID, Ortho BioVue, Microplaca y Portaobjetos

RESUMEN

En 1900, Landsteiner descubrió que el serum de diversas personas llevaría a aglutinar los glóbulos rojos de los demás. En la actualidad existen cuatro fenotipos: O, A, B y AB. Subgrupos de A y B desde su identificación.

Grupo directo			A1	Grupo indirecto			Fenotipo ABO	Caucásicos %
A	B	A, B		A2	B	A, B		
+	0	+	0	0	+	0	A	42
0	+	+	+	+	0	0	B	10
0	0	0	+	+	+	0	O	44
+	+	+	0	0	0	0	AB	4

PRINCIPIO

Los reactivos ocasionarán una aglutinación directa (agrupamiento) de los glóbulos rojos examinados portadores del antígeno ABO correspondiente. La no aglutinación es indicadora de la ausencia del antígeno ABO correspondiente (Consulte la sección Limitaciones).

REACTIVOS

Los reactivos monoclonales de agrupación de sangre de Lorne IgM ABO contienen anticuerpos de monoclonales de ratón diluidos en solución buffer fosfato que contienen cloruro de sodio, EDTA y albúmina bovina. Cada reactivo es suministrado con dilución óptima para utilizarse con todas las técnicas recomendadas que se muestran en seguida sin necesidad de dilución o adiciones posteriores. Para el número de referencia de lote y fecha de caducidad consulte la etiqueta en el vial.

Producto	Línea celular/clon	Color	Colorante utilizado
Anti-A	9113D10	Azul	Azul patentado
Anti-B	9621A8	Amarillo	Tartracina
Anti-A, B	152D12 + 9113D10	Sin color	Ninguno

ALMACENAMIENTO

Los viales de reactivos deben almacenarse a 2-8°C tras la recepción. Un almacenamiento prolongado fuera del rango de las temperaturas indicadas podría dar como resultado en una pérdida acelerada de la reactividad de los reactivos. Este reactivo ha experimentado el transporte de los estudios de estabilidad a 37°C y -25°C como se señala en el documento EN13640:2002.

PREPARACIÓN Y TOMA DE MUESTRAS

Las muestras de sangre que han sido extraídas con o sin anticoagulantes podrán utilizarse para la tipificación de antígeno. Si existe algún retraso en cuanto a las pruebas almacene las muestras a 2-8°C. Las muestras con EDTA y citrato deben ser tipificadas dentro del periodo de los 7 días de la recaudación. Las muestras recaudadas en ACD, CPD o CPDA-1 pueden ser analizadas en un periodo de 35 días desde la fecha de extracción. Todas las muestras de sangre deben lavarse por lo menos 2 veces con PBS o salina isotónica antes de ser analizadas. Las muestras de sangre que muestran evidencia de lisis podrían arrojar resultados no fidedignos.

PRECAUCIONES

- Los reactivos se encuentran previstos para uso de diagnóstico in vitro.
- Descarte los contenidos de inmediato si el vial si se encuentra roto o goteando.
- No utilice los reactivos después de la fecha de vencimiento (consulte la etiqueta del vial).
- No utilice los reactivos si algún precipitado se llega a presentar.
- Deberá utilizarse ropa protectora al momento de manejar los reactivos, como también portar guantes desechables y bata de laboratorio.
- Los reactivos se han filtrado a través de una capsula de 0,2µm para reducir la prueba de carga microbiana (bio-burden). Una vez abierto el vial los contenidos deben permanecer viables hasta la fecha de vencimiento mientras no se encuentren señas de turbidez, pudiendo ser indicador de contaminación o deterioro del reactivo.
- Los reactivos contienen < 0.1 % de ácido de sodio. El ácido de sodio podría resultar tóxico si es ingerido y que puede reaccionar con las cañerías de plomo o cobre y dar lugar a azidas metálicas potencialmente explosivas. Para su eliminación por descarga realizar con grandes cantidades de agua.
- No hay prueba conocida que garantice que los productos derivados de fuentes humanas o animales se encuentren libres de agentes infecciosos. Deben tomarse las debidas precauciones en la utilización y desecho del vial y sus contenidos.

DESECHO DE LOS REACTIVOS Y CONTINGENCIA ANTE DERRAMES

Para solicitar información acerca del modo de desecho de los reactivos y descontaminación en sitios de derrame, consulte la hoja de seguridad, disponible a petición.

CONTROLES Y ASESORAMIENTO

- Se recomienda que ambos controles positivos y negativos se analicen paralelamente con cada lote de las pruebas. Las pruebas deben considerarse inválidas si los controles no muestran los resultados esperados.
- Dado que los reactivos no contienen potenciadores macromoleculares, existen pocas probabilidades de que las reacciones de falsos positivos sean causadas por células revestidas IgG.
- Las muestras de sangre de subgrupos débiles A o B (ejemplo: Ax) podría

conducir a falsos negativos o reacciones débiles al analizarse con portaobjetos, placas de microfitre o tarjetas de gel. Se aconseja realizar de nuevo la prueba de los subgrupos débiles utilizando la técnica en tubo.

- Aquellas personas mayores a los seis meses deberán contar con sus respectivos resultados confirmados de su grupo de sangre ABO al momento de analizar su respectivo suero o plasma frente al grupo conocido A 1 y células B antes de poder confirmar su grupo de sangre ABO.
- En la sección de Técnicas Recomendadas un volumen es de aproximadamente 50µl al utilizar el vial suministrado.
- El uso de reactivos y la interpretación de los resultados debe realizarse por personal capacitado y calificado cumpliendo con los requisitos de la región donde se utilicen los reactivos.
- El usuario debe determinar la idoneidad de los reactivos para utilizarse con otras técnicas.

REACTIVOS Y MATERIALES REQUERIDOS

- Varillas aplicadoras.
- Placa lectora automática.
- Tarjetas de DiaMed ID (Neutral).
- Centrifugadora DiaMed ID.
- Solución CellStab DiaMed ID- o ID-Diluent 2.
- Portaobjetos de vidrio para microscopio.
- Tubos de prueba de vidrio (10 x 75 mm or 12 x 75 mm).
- Centrífuga de microplacas.
- Casets Ortho BioVue System (Neutral).
- Centrífuga Ortho BioVue System.
- Diluyente de glóbulos rojos Ortho 0.8%.
- Agitador de placas.
- Solución PBS (pH 6.8-7.2) o solución salina isotónica (pH 6.5-7.5).
- Controles positivos y negativos de glóbulos rojos:
- Anti-A: grupo A2B (control positivo) y grupo O (control negativo).
- Anti-B: grupo A1B (control positivo) y grupo O (control negativo).
- Anti-A, B: grupo A1B (control positivo) y grupo O (control negativo).
- Centrífuga de tubos de prueba.
- Microplacas fondo "U"
- Pipetas volumétricas.

TÉCNICAS RECOMENDADAS

A. Técnica en tubo

- Preparar un 2-3% de la suspensión de los glóbulos rojos enjuagados en PBS o solución salina isotónica.
- En un tubo de prueba etiquetado coloque: 1 volumen de reactivo Anti-ABO de Lorne y un 1 volumen de suspensión de glóbulos rojos de prueba.
- Mezclar bien e incubar a temperatura ambiente durante 1 minuto.
- Centrifugar todos los tubos durante 10 segundos a 1000 rfc en una alternativa adecuada de tiempo y fuerza.
- De manera gentil resuspenda el botón de los glóbulos rojos y realizar la lectura en microscopio para aglutinación.
- Si alguno de los tubos, llega a mostrar resultados negativos o dudosos, se deberán incubar por 15 minutos a temperatura ambiente.
- Después de la incubación, repita los pasos 4 y 5.

B. Técnica DiaMed-ID de Micro Tipificación

- Prepare el 0.8% de la suspensión de glóbulos rojos lavados en una solución ID-CellStab o ID Diluent 2.
- Sacar la cantidad requerida de micro tubos del sobre de aluminio.
- En un microtubo adecuado coloque: 50µl de la suspensión de glóbulos rojos de prueba y 25µl de reactivo Anti-ABO de Lorne.
- Centrifuge las ID-Card(s) en el sistema de centrifuga de tarjeta de gel de DiaMed gel.
- Realizar la lectura visual para aglutinación.

C. Técnica de tipificación Ortho BioVue

- Prepáre un 0.8% de la suspensión de glóbulos rojos lavados de prueba en un 0.8% de Ortho Red Cell Diluent.
- Extraiga del sobre de aluminio la cantidad requerida de cámaras de reacción.
- En una cámara de reacción adecuada coloque: 50µ de la suspensión de glóbulos rojos de prueba y 40 µl de reactivo Anti-ABO de Lorne.
- Centrifugar los casetes en un sistema de centrifuga de Ortho BioVue.
- Realice la lectura visual para aglutinación.

D. Técnica de microplacas, con pocillos fondo "U"

- Prepáre un 2-3% de la suspensión de glóbulos rojos lavados de prueba en solución PBS o solución salina isotónica.
- En un pocillo adecuado coloque: 1 volumen del reactivo Anti-ABO de Lorne y 1 volumen de la suspensión de glóbulos rojos de prueba.
- Mezcle bien, utilice de modo preferente un agitador de microplaca, teniendo la debida precaución de no causar una contaminación cruzada.
- Incubar a temperatura ambiente por 15 minutos (el tiempo dependerá del usuario)

- Centrifugar la microplaca por 1 minuto a 140 rcf en una alternativa adecuada de tiempo y fuerza.
- Resuspensión de los botones celulares mediante una agitación controlada en un agitador de microplacas.
- Realizar la lectura visual o con un lector automático.
- Cualquiera de las reacciones que resulten débiles deberán repetirse con la técnica en tubo.

E. Técnica de portaobjetos

- Prepare un 35-45% de la suspensión glóbulos rojos lavados de prueba en solución PBS o solución salina isotónica.
- En un portaobjetos de vidrio coloque: 1 volumen de reactivo Anti-ABO de Lorne y 1 volumen de la suspensión de glóbulos rojos de prueba.
- Con la varilla aplicadora, mezcle los reactivos y las células en un área de alrededor de 20 x 40 mm.
- Incline lentamente el portaobjetos hacia atrás y adelante durante 30 segundos, con movimiento ocasional durante un periodo de 2 minutos, preservando el portaobjetos a temperatura ambiente.
- Realizar la lectura visual después de 2 minutos sobre una luz difusora y no confunda las hebras de fibrina con aglutinación.
- Cualquiera de las reacciones que resulten débiles deberán repetirse con la técnica en tubo.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

- Positivo: La aglutinación de los glóbulos rojos de prueba significa un resultado positivo de prueba y dentro de las limitaciones de aceptación del procedimiento de la prueba, es indicador de la presencia del antígeno ABO en los glóbulos rojos de prueba.
- Negativo: La no aglutinación de los glóbulos rojos de prueba constituye un resultado negativo y dentro de las limitaciones de aceptación del procedimiento de la prueba, es indicador de la ausencia del antígeno ABO en los glóbulos rojos de prueba.
- Discrepancias: Si los resultados obtenidos con el grupo indirecto no se correlacionan con el grupo directo, será requerida una investigación posterior.

ESTABILIDAD DE LAS REACCIONES

- Realizar la lectura de las pruebas de todos los tubos y microplacas enseguida de la centrifugación.
- Las pruebas con los portaobjetos deben interpretarse dentro de los dos minutos para asegurar la especificidad y evitar la posibilidad de que un resultado negativo sea interpretado de manera incorrecta como positivo debido al secado de los reactivos.
- Debe emplearse precaución al momento de interpretar los resultados de las pruebas cuyas temperaturas sean diferentes a las recomendadas.

LIMITACIONES

- Los antígenos ABO no se encuentran desarrollados en su totalidad al nacer, de esta manera es de esperarse que ocurran reacciones débiles con muestras neonatales o de cordón umbilical.
- Al utilizar muestras de sangre de Anti-A, B monoclonal o de subgrupos débiles A o B (por ejemplo: Ax) se pueden originar falsos negativos o reacciones débiles al analizar en portaobjetos, placas de microtitre o tarjetas de gel. Es aconsejable realizar nuevamente la prueba de los subgrupos débiles usando la técnica en tubo.
- Anti-A monoclonal y Anti-B monoclonal de Lorne no se encuentran validados para detectar los antígenos AX y A3 o Bx y B3 por lo cual no afirmamos la reactividad de los reactivos monoclonales Anti-A o Anti-B contra los sub grupos débiles de A y B.
- La sangre que se encuentra almacenada puede dar como resultado reacciones más débiles que la sangre fresca.
- Resultados de falsos positivos o falsos negativos podrían ocurrir debido a:
 - Contaminación de los materiales de prueba.
 - Almacenamiento inapropiado, concentración celular, tiempo de incubación o temperatura.
 - Centrifugación inadecuada o excesiva.
 - Desviación de las técnicas recomendadas.
 - Muestras de cordón umbilical contaminadas con gelatina de Wharton.

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE RENDIMIENTO

- Los reactivos han sido caracterizados por todos los procedimientos mencionados en las Técnicas Recomendadas.
- Previo a su expedición, cada lote de reactivos monoclonales Anti-A, Anti-B y Anti-A, B es analizado contra un panel de glóbulos rojos de antígeno positivo para asegurar la reactividad adecuada.
- La especificidad del origen de los anticuerpos monoclonales es demostrada utilizando un panel de células antígeno negativas.

- La potencia de los reactivos se ha analizado contra las siguientes normas de referencia de mínima potencia obtenidas del National Institute of Biological Standards and Controls (Instituto Nacional de controles y normas biológicas) (NIBSC): Norma de referencia Anti-A 03/188 y / o Norma de referencia Anti-B 03/164
- El reactivo Anti-B de Lorne no reacciona con los glóbulos rojos de antígeno "B adquirido".
- Los reactivos monoclonales ABO de Lorne no detectan los antígenos crypt tales como T, Tn o Cad.
- La calidad de control de los reactivos se realizó utilizando los glóbulos rojos que se lavaron en por lo menos dos ocasiones con la solución PBS o solución salina isotónica.
- Los reactivos cumplen con las recomendaciones que se encuentran dentro del contenido de la última edición del Guidelines for the UK Blood Transfusion Services (pautas para los servicios de transfusión de sangre en el Reino Unido).

ACLARACIONES

El usuario es responsable por la ejecución de los reactivos con otro método diferente a aquellos mencionados en la sección Técnicas Recomendadas. Cualquier tipo de desviación dentro de las Técnicas Recomendadas Deberá aprobarse antes de su uso*.

BIBLIOGRAFÍA








- Kholer G, Milstein C. Continuous culture of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature 1975; 256, 495-497
- Messther L et al. Mouse monoclonal antibodies with Anti-A, Anti-B and Anti-A, B specificities, some superior to human polyclonal ABO reagents. Vox Sang 1984; 46, 185-194
- Race RR, Sanger R. Blood Groups in Man, 6th Edition. Blackwell Scientific, Oxford 1975; Chapter 2.
- Mollison PL. Blood Transfusion in Clinical Medicine, 8th Edition, Blackwell Scientific, Oxford 1987; Chapter 7.
- Issitt PD. Applied Blood Group Serology, 3rd Edition. Montgomery Scientific, Miami 1985; Chapter 6
- BSCB Blood Transfusion Task Force. Guidelines for microplate techniques in liquid-phase blood grouping and antibody screening. Clinical Laboratory Haematology 1990; 12, 437-460.
- Guidelines for the Blood Transfusion Service in the United Kingdom. H.M.S.O. Current Edition.
- 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 DISPONIBLES DE REACTIVOS

	Tamaño del Vial	No. de Catálogo
Anti-A Monoclonal	10 ml	600010
	1000 ml	600000*
	5000 ml	600000X5*
Anti-B Monoclonal	10 ml	610010
	1000 ml	610000*
	5000 ml	610000X5*
Anti-A, B Monoclonal	10 ml	620010
	1000 ml	620000*
	5000 ml	620000X5*

*Este tamaño es solo para uso manufacturero (FFMU) y por lo tanto no contiene el marcado CE.

TABLA DE SÍMBOLOS

	Número de lote		Diagnóstico in-vitro
	Referencia de catálogo		Almacenar a
	Fecha de caducidad		Fabricante
	Leer el instructivo		



Lorne Laboratories Limited
 Unit 1 Cutbush Park Industrial Estate, Danehill, Lower Earley, Berkshire RG6 4UT
 United Kingdom
 Tel: +44 (0) 118 921 2264 Fax: +44 (0) 118 986 4518 Email: info@lornelabs.com
www.lornelabs.com