Instructions for use

Sanquin Reagents B.V.
Plesmanlaan 125
1066 CX Amsterdam
The Netherlands

Phone: +31 20 5123599
Fax: +31 20 5123570
Reagents@sanquin.nl
www.sanquin.org/reagents

Pelikloon anti-D (IgM) monoclonal

REF K1255

IVD CE 0344

005_v04 07/2019 (es)

Sólo para uso profesional

Reactivo hemoclasificador para la detección del antígeno D en las células rojas humanas

Información general
El reactivo hemoclasificador Pelikloon anti-D (IgM) monoclonal (los números de clones se mencionan en el certificado correspondiente de análisis/documento de venta y en la etiqueta del producto) es preparado a partir de sobrenadantes de cultivo de líneas de células estables de hibridoma, tal como describieron por primera vez Köhler y Milstein (Nature 1975). Este reactivo monoclonal contiene anticuerpos IgM humanos y ha sido especialmente seleccionado y desarrollado para proveer una alternativa fiable a los reactivos policlonales. Este reactivo cumple con los requisitos de las normas y directrices correspondientes. Las características del funcionamiento se mencionan en los documentos de venta, que son entregados junto con el producto a solicitud. El principio del análisis es la técnica de aglutinación, que se basa en la reacción de los antígenos/anticuerpos. El reactivo puede usarse en tubo de centrífuga o en microplaca. Este reactivo detecta todos los antígenos D normales y la mayoría de los antígenos D débiles, pero no la variante D VI. Se recomienda encarecidamente la inclusión de controles positivos y negativos en cada serie de hemoclasificación.

Precauciones
Sólo para el uso diagnóstico in vitro. Se recomienda guardar los reactivos a 2-8 °C. No usar los viales que pierden líquido o dañados. No usar los reactivos (abiertos o cerrados) después de la fecha de vencimiento, que aparece en la etiqueta del vial. NaN_3 0,1% (w/v) se usa como conservante. No se puede garantizar que los reactivos están libres de agentes infecciosos. Usar y desechar cada recipiente y su contenido con cuidado. Un aspecto turbio puede ser señal de contaminación microbiana. Para reconocer el deterioro del reactivo, se recomienda analizar el reactivo como parte del programa de control de calidad del laboratorio, realizando los controles adecuados. La eliminación de residuos después de concluir el análisis, debe realizarse conforme a las regulaciones de su laboratorio.

Obtención y preparación de las muestras
Las muestras de sangre deben retirarse de manera aséptica añadiendo o no anticoagulantes. Si el análisis de las muestras de sangre se demora, conservar a 2-8 °C.
La preparación de la muestra se describe en los procedimientos de análisis respectivos.

Procedimientos de la prueba
Método en tubo de centrífuga
Requisitos del tubo: tubos de cristal con fondo redondo; medidas 75 x 10/12 mm.

1. Preparar una suspensión celular de células rojas del 3-5% para su análisis en salina isotónica.
2. Añadir al tubo de ensayo:
   - 1 gota de reactivo Pelikloon
   - 1 gota de la suspensión celular del 3-5% y mezclar bien.
3. Centrifugar durante 20 segundos a 1000 fcr o durante el tiempo apropiado de calibración de la centrífuga.
4. Resuspender las células agitando suavemente y examinar macroscópicamente la aglutinación.

Método en microplaca
Requisitos de la microplaca: microplacas de poliestireno con pocillos de fondo redondo

1. Preparar una suspensión celular de células rojas del 2-3% para su análisis en salina isotónica.
2. Añadir a un pocillo:
   - 1 gota de reactivo Pelikloon
   - 1 gota de la suspensión celular del 2-3%
3. Mezclar bien el contenido durante 5 segundos usando una centrífuga a 600-700 rpm.
4. Incubar durante 10-15 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C) sin agitar.
5. Centrifugar durante 10-20 segundos a 700 fcr o durante el tiempo apropiado para la calibración de la centrífuga.
6. Recentrifugar la microplaca durante 1-4 minutos en la centrífuga a 600-700 rpm o durante el tiempo necesario para resuspender totalmente las células en los pocillos con reacciones negativas.
7. Dejar reposar la microplaca durante 1 minuto para permitir que se depositen las aglutinaciones más pequeñas.
8. Las reacciones pueden examinarse ahora macroscópicamente o usando un lector automático.

Interpretación
Una reacción positiva (es decir, aglutinación) indica la presencia del antígeno Rh D. Se deben verificar las reacciones positivas débiles (2+ o menos) o las reacciones negativas si es necesario para determinar la presencia de un antígeno D parcial o débil con un reactivo Pelikloon anti-D adecuado (K1151, K1157).

Frecuencia	Caucásicos	Negros
Antígeno D	85%	92%

Limitaciones
Resultados positivos inesperados a causa de: pseudoaglutinación, autoaglutinación, reacción de aglutinación mixta, el uso de gelatina de Wharton junto con las células del cordón umbilical.
Resultados negativos o débiles inesperados a causa de: antígenos débiles, reacción de aglutinación mixta, actividad reducida del reactivo.
Las células con antígenos mutados pueden producir reacciones positivas o negativas inesperadas con muestras previamente tipificadas con reactivos de grupo sanguíneo de orígenes policlonales u otros orígenes monoclonales derivados de la estirpe celular.
Los resultados falsos positivos o negativos pueden ser originados por contaminación del material de análisis o por diferir del método recomendado.
Las células rojas que dan un resultado positivo en el test directo de antiglobulina (DAT) pueden producir resultados positivos falsos. Se recomienda el uso de control monoclonal Pelikloon para la detección de este tipo de resultados inválidos.
Los reactivos hemoclasificadores monoclonales Pelikloon han sido optimizados para el uso de los métodos recomendados en el anexo en el embalaje. Salvo que se indique algo distinto, si resultan o no apropiados para el uso de otros métodos, deberá comprobarlo el usuario.

Referencias

1. Race R.R. and Sanger R.; Blood Groups in Man, 6th ed. Oxford Blackwell Scientific Publishers 1975.
2. Issit P.D.; Applied Blood Group Serology, 3rd ed. Montgomery Scientific Publications, Miami, Florida, USA, 1985.
3. Daniels G.; Human Blood Groups. Blackwell Science Ltd. 1995.
4. Reid M.E. et al.; The Blood Group Antigen FactsBook. FactsBook Series, 3rd ed. 2012.
5. Mollison P.L. et al.; Blood Transfusion In Clinical Medicine, 9th ed. Blackwell, Oxford, 1993.

Se garantiza que los productos Sanquin funcionarán tal como se describe en las instrucciones de uso del fabricante original. Es fundamental el cumplimiento estricto en relación a los procedimientos, los diseños de prueba y los reactivos y equipos recomendados. Sanquin rechaza toda responsabilidad que surja de cualquier desvío de ellos.