

Título

Implementar un proceder para la obtención de los reactivos hemoclasificadores policlonales ABO en el banco de sangre provincial de Cienfuegos.

Autor

Lilian Torres González

Tutores

Lic. Blanca Fernadez Feros
Msc. Yanelys Saucedo Hernández
Msc. Ariel Menendez Barrios
Dr. Pedro Sanches Frenes

La tesis de grado constituye para un estudiante, la culminación de varios años dedicados al estudio y las múltiples tareas de la revolución, lo que implica no solo un esfuerzo personal sino el apoyo moral y material de muchos compañeros en todo el período.

A todos aquellos, que de una forma u otra han sido partícipes de nuestros éxitos quisiéramos dedicarles este trabajo, también a mi compañero incondicional en todo momento mi esposo, y quienes me educaron en los principios de amor, entrega y solidaridad, mis abuelos, mi tío y mi madre.

Agradezco a este centro de estudios Universidad Central "Martha Abreu" de las Villas por haberme formado como Licenciada en Ciencias Farmacéuticas, para contribuir de esta forma al desarrollo del país; y a todos aquellos que con su estímulo me han alentado y ayudado para ver realizado nuestro mayor anhelo.

A todos

Gracias

Con el objetivo de elevar la calidad de los reactivos hemoclasificadores policlonales ABO, se realizó una amplia revisión bibliográfica para implementar un proceder que permitiera la manufactura del producto con el cumplimiento de las Buenas Prácticas de Laboratorio Clínico, y las Buenas Prácticas de Producción en el departamento de Producción del Banco de Sangre Provincial de Cienfuegos.

Se diseñaron y elaboraron los documentos que forman parte del sistema de documentación, entre ellos: el procedimiento normalizado de operaciones, los documentos para la recolección de los datos, así como los registros de trazabilidad, modelos de solicitud de ensayos microbiológico y funcional y el protocolo de liberación.

En el departamento de Aseguramiento de la Calidad se introdujeron los ensayos funcionales establecidos por el CEDMED para la evaluación de los reactivos hemoclasificadores policlonales y monoclonales del sistema de grupos sanguíneos humanos ABO¹, con el propósito de determinar de la calidad del lote del reactivo anti-AB policlonal. Se entrenó al personal responsable de esta actividad en el uso de estos métodos de evaluación del producto terminado.

Los resultados de los ensayos funcionales fueron satisfactorios debido a que cumple con los requisitos de potencia, avidez y especificidad. Además se evaluó en paralelo con el reactivo anti-AB de origen monoclonal producido por Centics Diagnóstico en cuanto a potencia, avidez e intensidad de la reacción en los cuales demostró ser eficaz como reactivo hemoclasificador.

With the objective of rising up the quality of the serums blood grouping reagent ABO, It was carried out a wide bibliographic checking, to put in practice a new procedure which permits the product is manufacturing, taking into consideration a good practice of clinic laboratory and a good manufacturing practice at the Production Department from the Blood Banks at Cienfuegos Province.

There were designed and produced the documents which take part of the documentation system between them. The Normalized Procedure for Operation, the documents for the recollection of data, as well as the registers of trace ability, the analysis request models, microbiological and functional.

The were introduce, functional essays at the quality assurance department which were establish by CEDMED, for the evaluation of the Policlonal and Monoclonal human blood grouping reagent system ABO. Which the objective of determined the quality of the anti-AB policlonal reactive lot. The responsible persons for this activity has been well trained for using this evaluative methods of defined products.

The functional essays results were satisfactory due to the potent, avid and specific requirement were not violated. Besides that it was evaluated parallel with the anti-AB reactive from monoclonal origin produced by Centic Diagnósticos taking into consideration. The potent, avid and intensity of the reaction in which it showed to be very efficient as an blood grouping reagent.

Introducción	1
Capítulo 1 Revisión bibliográfica. Antecedentes y estado actual.	3
1.1 Grupos sanguíneos ABO y antígenos relacionados estructuralmente.	3
1.1.1 El sistema ABO.	3
1.1.2 Antígenos del sistema ABO. Consideraciones bioquímicas y genéticas.	4
1.1.3 Subgrupos.	5
1.1.4 Anticuerpos contra A y B.	6
1.1.5 Tiempo de aparición.	6
1.1.6 Reactividad de anti-A y anti-B.	7
1.1.7 Anti-AB (Suero del grupo O).	7
1.1.8 El factor Rh.	7
1.1.9 Pruebas de rutina para ABO.	8
1.1.10 Consideraciones especiales.	10
1.2 La sangre y componentes.	11
1.3 Requisitos generales de los diagnósticos para uso en inmunohematología.	12
1.3.1 Precauciones.	12
1.3.2 Condiciones de almacenamiento.	13
1.3.3 Recolección de las muestras.	13
1.4 Aseguramiento de la calidad.	13
1.4.1 Evolución histórica de la calidad.	13
1.4.2 ISO y las Normas ISO 9000.	14
1.4.3 Control de la calidad y garantía de calidad.	15
1.4.4 Autoridad y responsabilidad de la unidad organizativa de Aseguramiento de calidad.	16
1.4.5 Manual de organización y procedimientos.	23
1.4.6 Control de las etiquetas y liberación de los lotes.	26

Capítulo 2. Materiales y métodos	28
2.1 Desarrollo del procedimiento	28
2.2 Aplicación de la metodología propuesta para la producción de un lote del reactivo anti-AB policlonal.	29
2.3 Evaluación de la calidad del producto terminado.	29
2.3.1 Equipos, materiales y reactivos	29
2.3.2 Parámetros evaluados	30
2.4 Evaluación en paralelo	35
Capítulo 3. Resultados y discusión.	36
3.1 Descripción del procedimiento.	36
3.2 Resultados de la aplicación de la metodología propuesta.	50
3.3 Evaluación de la calidad del producto terminado.	51
3.4 Evaluación en paralelo del reactivo anti – AB policlonal con el reactivo Anti-AB monoclonal.	54
Conclusiones	57
Recomendaciones	58
Referencias bibliográficas	59
Anexos	62

La calidad en todos los aspectos de la asistencia y los servicios, es el principal objetivo de los Bancos de Sangre Centrales y Servicios de Medicina Transfusional. A través de los años diferentes actividades han sido incorporadas a los Manuales de Procedimientos Estándar (MPE) para asegurar la calidad de la unidad de sangre y/o de componentes y control de la calidad de los reactivos.³

La producción de antisueros policlonales confiables y de alta calidad para la tipificación de la sangre es una tarea muy laboriosa, que tarda tiempo y depende de la inmunización de seres humanos que actúan como donantes especialmente sensibilizados, para a partir de su sangre obtener este tipo de reactivos.⁴ En este principio se basa la producción de reactivos hemoclasificadores policlonales en Cuba y otros países y el autoabastecimiento de este tipo de reactivos son esenciales para el funcionamiento adecuado del Sistema Nacional de Salud.⁴

En el departamento de Producción del Banco de Sangre Provincial de Cienfuegos se producen reactivos hemoclasificadores policlonales para la clasificación de los grupos sanguíneos humanos ABO. El proceso de producción se basa en la Norma Cubana establecida en el año 1979⁵, por lo que se hace necesario crear una nueva metodología que garantice una mayor calidad de los reactivos producidos.

Otra actividad fundamental es la elaboración de la documentación, que es una parte esencial de cualquier sistema de aseguramiento de la calidad y está relacionada con todos los aspectos de las Buenas Prácticas de Producción (BPP), las Buenas Prácticas de Laboratorio Clínico (BPLC) y las Buenas Prácticas Clínicas (BPC), que nos permiten tener un camino hacia la información, tener una guía de entrenamiento y un formato para el establecimiento de los compromisos.¹

Para la producción de los reactivos hemoclasificadores policlonales, se elaboró un Procedimiento Normalizado de Operaciones sobre la base de una amplia revisión bibliográfica, se trabajó en estas actividades con el fin de crear las condiciones necesarias para el establecimiento del control de la calidad de dicho reactivo, que permitiera la verificación de la conformidad de las materias primas y el producto final de acuerdo con las especificaciones establecidas y registrar todas las etapas del proceso productivo, dejando constancia de la realización de todas las actividades que conforman la manufactura del producto.

Una vez que se decidió crear toda la infraestructura necesaria para la producción de dichos reactivos, se hizo necesario introducir un sistema analítico que permitiera realizar la actividad de control de la calidad a los lotes producidos y a las materias primas. Para este propósito se adiestró al personal necesario.

OBJETIVOS

GENERAL: Implementación de un proceder para elevar la calidad de los reactivos hemoclasificadores policlonales ABO producidos en el Banco de Sangre Provincial de Cienfuegos.

ESPECIFICOS

1. Implementar el procedimiento para la producción de reactivo hemoclasificadores policlonales ABO.
2. Evaluar la calidad de un lote de reactivo hemoclasificador Anti- AB producido según la metodología propuesta.

1.1 GRUPOS SANGUINEOS ABO Y ANTIGENOS RELACIONADOS ESTRUCTURALMENTE.

1.1.1 El sistema ABO

Una serie de pruebas comunicadas por Karl Landsteiner en 1900 dio lugar al descubrimiento de los grupos sanguíneos ABO, debido a que ocurría la reacción de interacción de las aglutininas (anticuerpos) presentes en el plasma de algunos sujetos y los antígenos presentes en los glóbulos rojos de otros. Este descubrimiento sirvió de base para la elaboración de reactivos hemoclasificadores ABO.⁶

Estos grupos son cuatro, según la clasificación que hizo Landsteiner, clasificación hoy universal y se denominan: 0, A, B, AB.⁶ Este sistema ABO es el más significativo en la práctica transfusional. Es el único sistema en el cual los anticuerpos recíprocos (o antitéticos) están uniformes y predeciblemente en el suero de las personas normales que no han tenido exposición a eritrocitos humanos.³

En el plasma sanguíneo tenemos anticuerpos. Evidentemente, un individuo del grupo A no podrá tener anticuerpos anti-A, pues esto no sería viable (la sangre coagularía).⁷ Debido a estos anticuerpos la transfusión de sangre ABO incompatible puede ocasionar hemólisis intravascular severa, así como las otras manifestaciones de una reacción transfusional hemolítica aguda por transfusión.³

Así:

- Los individuos A tendrán anticuerpos anti-B
- Los individuos B tendrán anticuerpos anti-A
- Los individuos AB no tendrán anticuerpos de este tipo
- Los individuos O tienen los dos tipos de anticuerpos.⁷

1.1.2 Antígenos del sistema ABO. Consideraciones bioquímicas y genéticas.

En la membrana de los glóbulos rojos pueden existir unas proteínas especiales: son las glucoproteínas A y B. Así, un glóbulo rojo puede tener proteína A, proteína B, tener ambas o no tener ninguna. De manera que un individuo tendrá grupo sanguíneo A si sus glóbulos rojos tienen la glucoproteína A en su membrana, siguiendo el mismo criterio para el resto de los grupos (si no existe proteína, entonces será de grupo sanguíneo O). Estas proteínas corresponderían a lo que denominan antígenos.⁷

Los tres alelos comunes A, B y O se localizan en el cromosoma 9. Los genes A y B codifican las glucosiltransferasas que producen los antígenos A y B respectivamente.³

Los antígenos de los grupos sanguíneos son moléculas de carbohidratos estructuralmente relacionadas, y reflejan la actividad de enzima glucosiltransferasas genéticamente determinadas.³

Las personas con sangre del tipo O poseen un antígeno que se designa con el símbolo H, y en muy raras ocasiones se encuentra un individuo H-negativo, cuyo grupo sanguíneo se define como Bombay.⁸

Aproximadamente el 80% de los individuos no solo poseen antígenos de grupos sanguíneos en la superficie de sus células, sino que también segregan una forma hidrosoluble de antígenos A, B o H en su saliva y en otros líquidos tisulares de excreción. Casi todas las personas que poseen sangre del tipo A, B u O presentan en su suero anticuerpos contra los antígenos A o B cuando estos no forman parte de sus células.⁸

1.1.3 Subgrupos.

Los subgrupos son los fenotipos ABO, que difieren en la cantidad de antígeno acarreado por los eritrocitos y, en los secretores presentes en la saliva. Los subgrupos se hallan con mayor frecuencia y son más significativos para A que para B.³ Dentro del grupo sanguíneo A, existen a su vez dos subgrupos importantes (A1 y A2) definidos estos por la reacción de los hematíes con la lecitina anti-A *Dolichos biflorus* (grupo A1) y la lecitina anti-H *Ulex europeus* (grupo A2) y una variante intermedia que reacciona con ambos reactivos (variante *Aint*), junto a otras variantes menos comunes.⁸

Los dos principales subgrupos dentro del grupo A se deben a una diferencia en la expresión de los determinantes A (N-acetilgalactosamina), las células A1 poseen 1×10^6 determinantes A, mientras que las células A2 tienen solo $2,5 \times 10^5$.⁸ Los genes A1 y A2 determinan diferencia cuantitativa y cualitativa entre los eritrocitos de los fenotipos A1 y A2. Los eritrocitos de las personas A1 y A2 reaccionan fuertemente con el reactivo Anti-A en las pruebas de aglutinación directa.³

Tanto los genes A1 como los A2 codifican para la alfa-3-N-acetil-galactosaminil transferasa, pero esta enzima difiere en sus propiedades cinéticas y la transferasa codificada por los genes A2 es generalmente menos eficiente, pero al parecer, no solo existe una diferencia cuantitativa, sino que se ha comprobado que las células A1 tienen una estructura H tipo 2 extendida diferente a la de las células A2.⁸

Los reactivos hemoclasificadores policlonales obtenidos del suero de donantes del grupo B no necesariamente detectan a estas variantes, y por lo tanto, usualmente se utilizan reactivos policlonales anti-AB (de donantes del grupo O) para que las variantes Ax sean detectadas.⁶

Los subgrupos de B son aún menos común que los de A. Los criterios para su diferenciación se asemejan a los del grupo A. Se han comunicado sustituciones de aminoácidos en algunas glucosiltransferasas codificadas por los genes de los subgrupos débiles.³

1.1.4 Anticuerpos contra A y B

Ordinariamente los individuos poseen anticuerpos contra el antígeno A o B ausente de sus propios eritrocitos. Esta relación complementaria predecible permite la investigación ABO del suero así como de los eritrocitos.

Una hipótesis acerca del desarrollo de estos anticuerpos se basa sobre el hecho de que las configuraciones que confieren especificidad A y B en las moléculas de las membranas eritrocitarias también existen en otras entidades biológicas, sobre todo en las paredes celulares bacterianas. Las bacterias están ampliamente difundidas y su presencia en la microflora intestinal asegura la exposición constante de los antígenos similares al A y B.³

Las personas inmunocompetentes reaccionan contra los antígenos ambientales mediante la producción de anticuerpos contra los que están ausentes de sus propios sistemas. Así el anti-A es producido por personas del grupo O y grupo B, anti-B es producido por personas grupo O y grupo A. Las personas de grupo AB que tienen ambos antígenos no producen ningún tipo de anticuerpos. Esta explicación ambiental para la aparición de anti-A y anti-B se mantiene como una hipótesis no comprobada.³

1.1.5 Tiempo de aparición

Anti-A y anti-B pueden generalmente ser detectados en el suero luego de los primeros meses de vida. La producción de anticuerpos se incrementa hasta alcanzar el nivel adulto de 5-10 años de edad y luego declina durante la vida.³

1.1.6 Reactividad anti-A y anti-B.

La IgM es la clase de inmunoglobulina predominante del anti-A producido por los individuos del grupo B y del anti-B producido por los individuos del grupo A. Aunque pequeñas cantidades de moléculas de IgG están presentes también. La IgG es la clase dominante del anti-A y anti-B del suero del grupo O.³

1.1.7 Anti- A y anti-B (suero de grupo O)

El suero de individuos del grupo O contiene un anticuerpo denominado anti-AB porque reacciona con los eritrocitos A y B y las especificidades anti-A y anti -B no se pueden separar mediante adsorción diferencial.³

Según las recomendaciones de la FDA, un reactivo para su evaluación como hemoclasificador anti-A debe reconocer, en pruebas de especificidad y título, al menos 1 muestra de hematíes A1 y 3 muestras diferentes de sangre periférica de individuos A2B, y para un hemoclasificador anti-AB se requiere el reconocimiento de como mínimo 2 muestras A1, 2 muestras A2, 4 muestras B, y al menos 3 diferentes muestras de las variantes Ax.⁸

1.1.8 FACTOR Rh

El factor Rh es otra proteína que existe en los glóbulos rojos de algunas personas. Su nombre viene del mono en el que fue descubierta, el macaco rhesus. El factor Rh positivo es un factor hereditario dominante. Este Factor Rh es un aglutinógeno encontrado en 1940 por Landsteiner y Weiner, en los glóbulos rojos en uno primates (*Macacus rhesus*) y que también existe normalmente en el 85% de los humanos, que por esta causa se denomina Rh positivos.⁹

La sangre de estos transfundida a los Rh negativos (15%), provoca en el suero de éstos últimos la formación de anticuerpos, que en sucesivas transfusiones pueden destruir los glóbulos rojos del donante Rh+ invalidando así la transfusión y creando efectos adversos. También en el embarazo un feto Rh + puede provocar en la madre Rh - la producción de aglutininas que podrán ser la causa de la enfermedad hemolítica de los recién nacidos.⁹

El factor Rh está constituido por un complejo de seis antígenos fundamentales, formado por tres pares de genes alelos: **Cc**, **Dd**, **Ee**. El antígeno de mayor poder sensibilizante es el **D**, le siguen en importancia el **e** y el **E**.⁹

1.1.9 Pruebas de rutina para ABO.

Las pruebas que se usan anti-A y anti-B para determinar la presencia o ausencia de los antígenos se describen a menudo como pruebas directas o eritrocitarias. El uso de eritrocitos testigos A1 y B para detectar anti-A y anti-B en el suero se denomina prueba sérica o inversa. Las pruebas de rutina en donantes y pacientes deben incluir ambas pruebas eritrocitarias y séricas que se controlan mutuamente.³

Algunos reactivos para tipificar el ABO de eritrocitos se preparan en pools de reactivos de individuos que han sido estimulados con sustancias de grupo sanguíneo A o B para producir anticuerpos de elevado título. Estos reactivos aglutinan la mayor parte de los eritrocitos antígenos positivos por contacto directo aún sin centrifugación.³

Tipificación directa:¹⁰

- Si las células sanguíneas se aglutinan al mezclarlas con suero anti-A, la persona posee sangre tipo A.
- Si las células sanguíneas se aglutinan al mezclarlas con suero anti-B, la persona posee sangre tipo B.
- Si las células sanguíneas se aglutinan al mezclarlas con reactivos anti-A y anti-B, entonces la persona posee sangre tipo AB.
- Si las células sanguíneas no se aglutinan con ninguno de los dos reactivos, el tipo de sangre es O.
- Si las células sanguíneas se aglutinan al mezclarlas con suero anti-Rh, el tipo de sangre es Rh positivo.
- Si la sangre no se coagula al mezclarse con suero anti-Rh, el tipo de sangre es Rh negativo.

Tipificación inversa: ¹⁰

- La aglutinación de células sanguíneas que ocurre cuando las células B se mezclan con el suero indica que la persona posee sangre tipo A.
- La aglutinación de células sanguíneas que ocurre cuando se mezclan las células A con el suero indica que la persona posee sangre tipo B.
- La aglutinación de células sanguíneas que ocurre cuando el suero de la persona se mezcla con ambos tipos de células indica que la sangre es tipo O.
- La falta de aglutinación de las células sanguíneas que ocurre cuando el suero de la persona se mezcla con ambos tipos de sangre indica que la sangre es tipo AB.

- Transfusiones de sangre:¹⁰
 - Si la persona posee sangre tipo A, puede recibir transfusiones de personas con sangre tipo A y O.
 - Si la persona posee sangre tipo B, puede recibir transfusiones de personas con sangre tipo B y O.
 - Si la persona posee sangre tipo AB, puede recibir transfusiones de personas con sangre tipo A, B, AB y O.
 - Si la persona posee sangre tipo O, puede recibir transfusiones sólo de personas con sangre tipo O.
 - Si la persona posee sangre Rh-positivo puede recibir transfusiones de personas con sangre tipo Rh positivo y Rh negativo.
 - Si la persona posee sangre Rh-negativo, sólo puede recibir transfusiones de personas con sangre tipo Rh negativo.

Se debe informar al médico si se han presentado reacciones a transfusiones anteriores y si le han administrado recientemente productos sanguíneos. El grupo AB puede recibir de cualquier otro grupo y de sí mismo, así que se llama "receptor universal". El grupo O, sin embargo, puede donar a cualquier grupo, así que se conoce como "donante universal"⁷

1.1.10 Consideraciones especiales

Existen muchos antígenos además de los mayores: A, B y Rh. Muchos de los antígenos menores no se detectan rutinariamente durante la determinación del grupo sanguíneo. Si no se reconocen, pueden iniciar una reacción a la transfusión sanguínea usualmente de menor magnitud que la de incompatibilidad de un grupo sanguíneo mayor.¹⁰

Estos antígenos menores se pueden detectar por medio de pruebas cruzadas, las cuales consisten en incubar el suero del receptor con los glóbulos rojos (GR) del donante en una solución salina, seguido de la adición de suero de Coombs.¹⁰

1.2 Sangre y componentes.

Las prácticas deben prevenir o postergar cambios físico-químicos deletéreos para los constituyentes de la sangre y minimizar la contaminación y proliferación microbianas. Las células sanguíneas dependen de un delicado equilibrio bioquímico de muchas sustancias para su integridad durante el almacenamiento, en especial de glucosa, pH y adenosintrifosfato (ATP). Para los eritrocitos el equilibrio se preserva almacenándolos entre 1-6°C.¹¹

La refrigeración o el congelamiento minimizan la proliferación de bacterias que pueden haber entrado en la unidad durante la venipuntura o que estuvieran presentes en la circulación del donante. Las soluciones preservadoras - anticoagulantes contribuyen a la estabilización metabólica e impiden la formación del coágulo.¹¹

Aún a 1-6°C las células prosiguen su actividad metabólica, consumen nutrientes y agotan las fuentes energéticas intracelulares. La temperatura de almacenamiento disminuye la actividad glucolítica.

La dextrosa está presente en todos los preservadores-anticoagulantes y soluciones aditivas en suficiente cantidad para sostener la continua generación de ATP en las vías glucolíticas. Las bolsas para la extracción de sangre disponibles en el comercio contienen 63 mL de solución preservadora – anticoagulante para una relación solución: sangre de 1:4 a 1:10.¹¹

1.3 Requisitos generales de los diagnósticos

Los diagnósticos de origen humano para uso en inmunohematología, o el inmunógeno de origen humano utilizado para la producción de reactivos en animales, se obtendrán de donantes que cumplan con lo establecido en la Resolución Ministerial no.148 de 1997 sobre Requisitos para la Selección de Donantes de Sangre, así como en las Regulaciones vigentes sobre Especificación y Requerimientos para la Obtención y Conservación de la Sangre y Requisitos del Plasma Humano como Materia Prima Farmacéutica, del CECMED. Los diagnósticos para uso en inmunohematología estarán sujetos a la Regulación vigente sobre Requisitos del Rotulado y Registro de los Diagnósticos, del CECMED.^{12.13}

El laboratorio utilizará reactivos químicos de calidad analítica certificada, acorde con los requisitos establecidos en los procedimientos para la ejecución de los ensayos. Los reactivos se conservarán atendiendo a las especificaciones del productor o suministrador, en lo referente a las condiciones de almacenamiento y período de validez de los mismos indicadas en la literatura interior correspondiente.¹⁴

1.3.1 Precauciones

Estos reactivos contienen azida sódica al 0,1%. Este compuesto puede ser tóxico si es ingerido. Además, puede reaccionar con las cañerías de plomo y cobre formando sales explosivas altamente tóxicas. Por esta razón, al eliminar los reactivos, hágalo dejando correr una abundante cantidad de agua.⁶ Estos reactivos son para uso profesional de diagnóstico in vitro, exclusivamente.⁶

1.3.2 Condiciones de almacenamiento

Los reactivos deben ser almacenados entre 2°C y 8°C. a las temperaturas de almacenamiento recomendadas, los reactivos son estables por lo menos durante 18 meses desde la fecha de elaboración. Un almacenamiento a temperaturas más altas o repetidas congelaciones y descongelaciones pueden afectar la estabilidad de los reactivos monoclonales tal como sucede con los reactivos policlonales humanos convencionales. Si bien la azida sódica se adiciona como bacteriostático, se recomienda inspeccionar el reactivo visualmente antes de usarlo. No debe utilizarse si presenta un aspecto turbio.⁶

1.3.3 Recolección de muestras

Las muestras de sangre deben recolectarse en forma aséptica, con o sin adición de anticoagulantes. Cuando se retrasa el examen de las muestras, estas deben almacenarse entre 2°C y 8°C. Las muestras recolectadas en Heparina o EDTA deben tipificarse dentro de 48 horas. Las muestras recolectadas en ACD, CPD y CPDA-1 pueden ser tipificadas hasta 35 días después de almacenadas. Las muestras coaguladas deben tipificarse dentro de los 7 días posteriores a su recolección.⁶

1.4 Aseguramiento de la calidad.

1.4.1 Evolución histórica de la calidad.

La evaluación de la calidad ha transitado por diferentes etapas:

- Inspección de la calidad.
- Control de la calidad.

- Aseguramiento de la calidad.
- Gestión de la calidad
- Gestión total de la calidad.

La gestión de la calidad y gestión total de la calidad se incluyen en las normas ISO 9001 y 9004 del 2000 respectivamente por lo que son los enfoques más actuales.¹⁵

1.4.2 ISO Y Normas ISO 9000:

La ISO: Es la oficina nacional de estandarización que tiene como objetivo unificar y conducir a todos los trabajos de Normalización en los diferentes campos de la actividad humana. Su trabajo técnico es ejecutado a través de Comités de Técnicos, Subcomités y Grupos de trabajo.¹⁵

¿Qué son las normas ISO 9000?

Un conjunto de normas internacionales genéricas que establecen sistemas de gestión de la calidad aplicados por organizaciones de cualquier tipo o tamaño.

La ISO 9000 establece requisitos del sistema de gestión de la calidad que son diferentes de los requisitos técnicos de los productos y de los requisitos técnicos de los procesos. Estos se complementan.¹⁵

La gestión de calidad se desarrolla mediante el establecimiento de un sistema de gestión de la calidad a través del cual la organización dirige y controla todo lo relacionado con la calidad.

1.4.3 Control de la calidad y garantía de calidad.

Se está implementando un nuevo modelo de calidad en los Bancos de Sangre Centrales y Medicina Transfusional. La garantía de calidad actual es un programa independiente de las operaciones adopta medidas inmediatas y preventivas cuando los sistemas comienzan a salir de control y analiza las auditorías internas para proporcionar la información necesaria para el mejoramiento del proceso.^{16.17}

La garantía de calidad se define como las acciones planeadas y realizadas que proporcionan fiabilidad acerca de que todos los sistemas y elementos que influyen sobre la calidad del producto actúan según lo esperado en forma individual y colectiva.³

La búsqueda constante de la excelencia en todos los aspectos de la asistencia médica y los servicios, constituye un objetivo principal de los Bancos de Sangre y Servicios de Transfusiones, para asegurar la excelencia hay que cumplir con las Buenas Prácticas de Banco de Sangre (BPBS) que se definen como los métodos usados, y las instalaciones y controles usados para la producción, el procesamiento, el empaque o embalaje de la sangre total y/o de sus componentes (incluidos pero no limitado, a los productos sanguíneos).¹⁸

Las BPBS aseguran que estos productos cumplan con los requisitos de calidad que los clientes demandan y están recogidos en los documentos regulatorios vigentes, y que tienen la identidad y la fortaleza, que cumplen con la calidad y con las características de pureza que portan o que dicen que poseen. Garantizan además que el producto que se elabora de forma consistente y controlado según los estándares de calidad apropiados y de acuerdo con el uso final que van a tener. Ellas incluyen tanto los procedimientos de producción como los de control de la calidad (CC)^{16.18}

Por otra parte, el aseguramiento de la calidad no es más que el conjunto de las acciones planificadas y ejecutadas que garantizan la confianza en todos los sistemas y elementos que influyen en la calidad del producto, de manera que se esté trabajando de la forma esperada.

Cada institución debe desarrollar un programa de Aseguramiento de la Calidad que debe tomar en cuenta las regulaciones estatales, las normativas locales y los estándares profesionales e incluirá los sistemas y medidas que se aplicarán para asegurar el cumplimiento de los requerimientos y los estándares. Cada sistema, una vez puesto en práctica, se perfeccionará y adaptará a las necesidades particulares de cada institución.¹⁶

1.4 .4 Autoridad y responsabilidad de la unidad organizativa de Aseguramiento de la Calidad.

La unidad organizativa o grupo encargado del aseguramiento de la calidad se subordinará directamente al director del Banco de Sangre y su ubicación en la estructura orgánica de la institución será independiente y separada del resto de las unidades organizativas operacionales.^{16.19}

Autoridad: La unidad organizativa tendrá la autoridad necesaria para ordenar el cese de cualquier proceso o procedimiento que no cumpla con las regulaciones, con el Manual de organización y Procedimientos de la institución, las instrucciones de producción, o las regularidades, y actuará para evitar la liberación de la sangre y/o componentes que violen las regulaciones o pudieran ser considerados como inseguros.

El grupo aprobará la liberación de la sangre y sus componentes que no cumpla con alguna de las especificaciones, siempre y cuando se elabore una revisión documentada que establezca que los productos son seguros para la transfusión o para su ulterior procesamiento.^{16.19}

Responsabilidades: El grupo de Aseguramiento de la Calidad tendrá las siguientes responsabilidades:

1. Revisar y aprobar los Procedimientos de Operaciones Estándares (POE) de las unidades organizativas operativas y los planes de entrenamiento o educación continuada del personal, incluyendo en algunas instalaciones, el desarrollo de nuevos procedimientos.
2. Revisar y aprobar los planes de validación y revalidación de los procesos, la calificación de los equipos y los resultados de ambos.
3. Revisar y aprobar los documentos de control y los sistemas de recopilación o registro de datos.
4. Liberará lotes por ejemplo: después de la revisión de todos los registros de operaciones y producciones y la decisión de distribuir, establecer cuarentena, o desechar la sangre y/o componentes sanguíneos.
5. Auditar las funciones operativas o de producción.
6. Revisar y aprobar los planes de acciones correctivas.
7. Revisar y aprobar las especificaciones de los productos, por ejemplo, los requerimientos que deben cumplir los productos usados en la producción, distribución o transfusión de sangre o de los componentes sanguíneos.

Para llevar a cabo sus responsabilidades, el grupo de Aseguramiento de la Calidad tendrá sus propios Procedimiento de Operaciones Estándar sobre las funciones que desarrolla, aplicando los mismos requerimientos para el desarrollo, la validación, implementación y control de estos procedimientos.

- **Documentación:** La documentación de los POEs es un paso crítico a llevar a cabo en la producción de sangre y sus componentes.

La documentación correspondiente estará disponible en cada puesto de trabajo para la realización de las actividades previstas.^{16.19}

Los Procedimientos Normalizado de Operaciones deben contener:^{14. 20.21}

1. Título
2. Objetivo
3. Alcance
4. Definiciones (Si procede)
5. Responsabilidades
6. Condiciones de seguridad (Si procede)
7. Equipos, materiales y reactivos (Si procede)
8. Operaciones preliminares (Si procede)
9. Procedimiento
10. Cálculo e interpretación de los resultados (Si procede)
11. Controles

12. Observaciones (Si procede)
13. Requisitos de la documentación(Si procede)
14. Referencias
15. Anexos (Si procede)
16. Datos acerca de la elaboración, revisión y aprobación del PNO

Todo Procedimiento deberá mostrar un encabezamiento de página donde aparecerá el nombre de la organización y/o laboratorio, el título del documento, código o el número de parte, número de páginas del total de estas, fecha y número de edición, fecha y motivo de la sustitución y firma de quien lo aprueba.²²

Los modelos para los diferentes tipos de registro aparecerán incluidos en los requisitos de la documentación de los procedimientos respectivos y dispondrán de suficiente espacio para asentar la información el día la hora "si fuera necesario" y el nombre y firma de la persona que efectuó el registro.²²

El procedimiento para la aprobación de enmiendas o correcciones efectuadas en un registro estará documentado. Estas enmiendas se harán siempre de forma tal que sea posible la lectura del dato errado, sin eliminar el mismo. Los registros serán conservados durante dos años como mínimo, en condiciones que garanticen la protección de la información. Los resultados de cada ensayo o serie de ensayos efectuados por el laboratorio serán informados exacta y claramente, sin ambigüedades y de forma objetiva, de acuerdo con la instrucción de cada método en un informe de ensayo.²³

➤ **Sistemas de registro:**

Generalmente los registros reciben la mayor parte de los señalamientos críticos durante las auditorías y las inspecciones. Se establecerá un protocolo escrito para el manejo de los registros y para asegurar que se elaboran los registros requeridos, se revisarán para su completamiento acucioso, se aprobarán, y mantendrán en condiciones de uso apropiado, se guardarán por el período de tiempo especificado, y se organizarán de forma tal que garanticen la trazabilidad y la recuperación de toda la información.^{16. 19}

Los sistemas de manejo de registros pueden ser manuales o automatizados (mediante el uso de las técnicas informáticas), pero siempre mantendrán copias duras en caso de que se usen los sistemas electrónicos computarizados.

➤ **Diseño de los registros:**

El sistema de registros se diseñará de manera que sirva y satisfaga las necesidades de cada institución. Cada modelo o plantilla debe tener un título que explique para que es ese registro e incluirá el nombre de la institución, instalación, y suficiente información como por ejemplo la dirección, para distinguirlos de otra institución similar que tenga el mismo nombre. Para elaborar estos registros se partirá de la base de que mientras más información impresa de antemano se coloque en el modelo o planilla, menos datos incorporados de forma manual se necesitarán y se disminuye el riesgo de errores, el formato de los modelos de registro se diseñará también para eliminar la necesidad de que sea firmado de forma repetida por la misma persona.^{16. 19}

Para diseñar los modelos de registros se recomienda que se tome en cuenta los indicadores y las inspecciones que realizan de forma regular el CEDMED, el Grupo Nacional de Hematología y Bancos de Sangre así como otros organismos reguladores.

➤ **Correcciones**

Si fuera necesario corregir cualquier registro, se identificará claramente la razón del cambio, la fecha y la persona responsable de este cambio. El registro original no se puede alterar, si se trata de registros escritos, se podrá encerrar en un círculo o marcar el dato que debe ser cambiado, pero se debe mantener legible. También se pueden corregir o añadir datos a registros electrónicos usando el mismo sistema que deja constancia de los cambios.^{16. 19}

➤ **Almacenamiento**

Los registros se guardarán de manera que se protejan de daños y de modificaciones alteraciones o destrucciones accidentales o no autorizadas. El grado de accesibilidad a los registros estará en dependencia de la frecuencia de su uso. El método de almacenamiento y la localización de los registros estará en dependencia del número de registros y la cantidad de espacio disponible, el lugar donde se deben indicar y organizar.^{16. 19}

Es muy importante y razonable contener un registro de destrucción, que debe incluir:¹⁵

1. Título de registro destruido.
2. Período al que corresponde los registros destruidos.
3. Fecha de la destrucción.
4. Responsable de la destrucción

➤ **Registros de procesamiento**

Se debe registrar cada paso significativo y puntos críticos de un procedimiento. Estos deben identificar en procesos legales o de investigación, a las personas responsables de cada paso significativo.^{16. 19}

Los estándares de la Asociación Americana de Bancos de Sangre exigen que los resultados de cada prueba se registren a medida que se efectúan las observaciones o al realizarse a cada paso. Los registros de procesamiento deben ser completos, legibles e indelebles, deben ser producidos en forma concomitante con las acciones u observaciones y suficiente detalle para una comprensión clara.^{16.19}

➤ **Requerimientos mínimos de registro.**¹⁹

1. Registro de prueba de Control de la Calidad efectuadas con reactivos de prueba para marcadores de enfermedades infecciosas, globulina antihumana, suero para agrupación de sangre y eritrocitos reactivos de acuerdo con lo especificado en el Manual de Procedimientos Estándar.
2. Registro de prueba de Control de Calidad de componentes preparados.
3. Registro de controles periódicos de la técnica estéril si los componentes son preparados en un sistema abierto a menos que haya sido aprobado un método equivalente por la FDA.
4. Registro de esterilización de los suministros y reactivos preparados en el servicio con fecha intervalo de tiempo, temperatura, método, registro de prueba con indicadores biológicos para determinar la eficacia de esterilización.
5. Registro de suministro de reactivos usados, fabricante, número de lote, fecha de recepción, fechas de utilización y fecha de vencimiento.

➤ **Requisitos que deben cumplir los procesos:**²²

1. No deben contradecir políticas de calidad.
2. No pueden entrar en conflicto entre sí.
3. Deben elaborarse de manera uniforme.

4. Deberán cubrir todos los aspectos de la actividad o proceso, particularmente aquellos que puedan influir en la calidad.
5. Deberán elaborarse racionalmente fundiendo los que sean posibles y haciendo referencia a las normas, instrucciones o especificaciones cuando sean aplicables.
6. Deben ser obedecidos.

Para garantizar la trazabilidad del producto se codifican: Documentos, materias primas, locales, equipos, personas, instrumentos de medición. El control de la documentación permite mantener la vigencia, operatividad y la disposición del sistema de gestión de la calidad.

1.4.5 Manual de organización y procedimientos.

Los manuales de procedimiento se elaborarán para el programa de garantía de calidad y para el funcionamiento operativo. Cuando son aplicables los procedimientos deben integrar la funcionalidad computacional en las operaciones de procesamiento de sangre. Incluso si se sigue un procedimiento publicado en el Manual Técnico, Asociación Americana de Bancos de Sangre u otro texto, el procedimiento se debe incluir dentro del cuerpo del manual de procedimientos del servicio.^{16.19}

El Manual de Organización y procedimientos se elaborará y desarrollará tanto por el grupo de Aseguramiento de la Calidad como por el resto de las unidades operacionales de la institución, se tendrá tanto en versión impresa como electrónica (si fuera posible), y cuando sea aplicable, el manual integrará las operaciones para el procesamiento de la sangre con los adelantos de la funcionalidad que ofrece la computación.

Aún cuando se sigan íntegramente los procedimientos publicados en Procederes para Bancos de Sangre y Servicios de Transfusión o en los Estándares para Bancos de Sangre de la República de Cuba, cada institución tiene la obligación de transcribirlos totalmente a su propio Manual de Organización y Procedimientos y mantenerlo actualizado periódicamente. Los procedimientos se escribirán en un formato uniforme y las partes más relevantes del Manual deberán estar accesibles en los lugares donde se aplican estos procedimientos.^{16. 19}

➤ **Contenido de los procedimientos.**

El Manual de Organización y Procedimientos tiene que incorporar las instrucciones de los fabricantes de los reactivos y equipos en uso y en caso de que hagan desviaciones, estos datos tiene que sustentar la eficacia de los métodos modificados y el cumplimiento de los métodos regulatorios. Las instalaciones que han obtenido licencia, tienen que tener el permiso de CEDMED antes de implementar los cambios en estos documentos.^{16. 19}

El Accreditation Requirements Manual (ARM) exige la inclusión en los manuales de procedimientos ejemplos de formularios usados para registrar los resultados de prueba e interpretaciones. Los procedimientos para la revisión, mantenimiento y distribución de estos registros también deben estar disponibles.^{16. 19}

El Manual de Procedimientos Estándar debe contener descripciones escritas y/o gráficas acerca de cómo leer, establecer puntajes y registrar todos los resultados de pruebas e interpretaciones, cuando se corresponda. Se incluyen orientaciones para el manejo de posibles problemas, así como límites establecidos sobre los juicios y criterios independientes de los individuos con relación a las consultas al supervisor.

Los detalles de los procedimientos, por ejemplo el volumen de los reactivos, el tiempo y la temperatura de incubación de las muestras, tienen que reflejar exactamente en el protocolo escrito lo que se hace en la práctica y lo que se indica que se debe recoger en los registros.^{16.19}

Se incluirá en el Manual copia de las etiquetas de los productos más relevantes que se emplean en la producción, así como copias como ejemplo de los modelos o planillas de los registros de resultados de las pruebas y de su interpretación. Los procedimientos para la revisión, mantenimiento y disposición de estos registros también estarán disponibles.

➤ **Validación de los Procedimientos de los Procesos.**

Los procedimientos relacionados con los procesos deberán ser validados antes de su implementación, por ejemplo se debe probar su completamiento, precisión, cumplimiento de las regulaciones, e impacto potencial sobre otros sistemas y se deben revisar y aprobar por Aseguramiento de la Calidad.^{16.19}

➤ **Control de los Documentos de Procedimientos.**

Existirá una copia de maestra de cada procedimiento y un índice de todos los procedimientos actualizado además de las copias de trabajo que se encuentran distribuidas por todas las instalaciones. El número de procedimientos en circulación estará controlado para asegurar que no hay copias en exceso cuando se implementen los cambios. Un procedimiento incluirá la fecha en que se redactó por primera vez y la fecha en que se implementó y se revisó.^{16.19}

➤ **Revisión y Renovación de los Procedimientos.**

Los Estándares de Bancos de Sangre establecen que se haga una revisión de cada uno de los procedimientos una vez cada año. Los procedimientos también se revisarán cada vez que surjan problemas de manera que se adopten medidas correctivas o las alternativas técnicas, y si se aprueban, se incorporen al Manual. El Manual de Organización y Procedimientos se revisará y si fuera necesario, corregirá de acuerdo a la política de los cambios establecidos cada vez que un nuevo procedimiento o política sea implementada, o cambien las instrucciones de los fabricantes de reactivos y equipos, o surja una nueva regulación o estándar.^{16. 19}

Cada vez que salga una nueva edición de los Estándares de Bancos de Sangre y una vez que se reciban los cambios adoptados en los documentos reguladores del CEDMED, o del Ministerio de Salud Pública, el Manual de Organización y Procedimientos se examinará página por página para que cumpla con estos requerimientos. Cuando se añaden nuevos procedimientos al Manual o se eliminan las nuevas instrucciones tienen que ser marcadas con la fecha de su retiro registrada.

1.4.6 Control de las etiquetas y liberación de los lotes.

Los procedimientos para el control de las etiquetas (rotulados) incluirán los controles de los siguientes aspectos: desarrollo de las especificaciones; aprobación de los suministradores; recepción y cuarentena, con chequeo de las que estén pendientes de aceptación; manejo de las etiquetas defectuosas; control de almacenamiento e inventarios; medidas de seguridad; aspectos a reflejar en las etiquetas y rótulos; y conciliación de cualquier discrepancia una vez rotulada unidad de sangre y/o componentes.

Se establecerá un proceso de control paso a paso del proceso de rotulado para asegurar que solo las unidades adecuadas estén listas para el rotulado, y que la sangre y/o componentes se han mantenido a la temperatura adecuada, durante el proceso de rotulado, y que se ha usado el rótulo adecuado.^{16. 19}

Antes de la distribución debe chequearse la documentación de que el producto completamente etiquetado ha sido examinado para un correcto etiquetado (Exactamente debe ser verificado por una segunda persona si se hace de forma manual).

El grupo de Aseguramiento de la Calidad tiene una gran responsabilidad en aprobar las especificaciones de las etiquetas, a su proveedor, dar los criterios para aceptarlas y auditar el proceso de rotulado.

MATERIALES Y METODOS

2.1 Desarrollo de un procedimiento normalizado de operaciones para el proceso de producción de los reactivos hemoclasificadores policlonales ABO.

En la Norma Cubana del año 1979 ⁵ se establecen a grandes rasgos los métodos a seguir para elaborar los reactivos hemoclasificadores policlonales de manera tal que permita clasificar la sangre de cualquier donante del sistema ABO, documento por el cual se rige el departamento de producción del BSP de Cienfuegos.

Con el propósito de demostrar que existe una metodología de mayor calidad que la Norma Cubana, se realiza una investigación descriptiva la que consta de varias etapas. Inicialmente se desarrolla una amplia y actualizada revisión bibliográfica que proporcionó la metodología para la producción de los reactivos hemoclasificadores policlonales ABO, en la que se incluyen las normas, resoluciones ministeriales y regulaciones vigentes, emitidas por el CEDMED y el Ministerio de Salud Pública. Estos entre otros documentos nos permiten crear un Procedimiento Normalizado de Operaciones que regule la metodología para la producción de dichos reactivos.

Los equipos, materiales y reactivos utilizados en la producción se encuentran aptos para el uso y con la calidad requerida, se describen en el capítulo 3, epígrafes 6.1, 6.2, 6.3 respectivamente del procedimiento normalizado de operaciones propuesto.

2.2 Aplicación de la metodología propuesta para la producción de un lote del reactivo anti-AB policlonal.

Con la finalidad de validar el procedimiento se desarrolla una producción de un lote del reactivo anti-AB policlonal utilizando como materia prima la bolsa de plasma anti –AB con historia clínica número 014HAB-1 que posee un título inicial de 1: 256 la cual se obtiene por plasmaféresis.

Método del potenciador

Para obtener el volumen ideal de solución salina que se le debe adicionar al reactivo hemoclasificador anti-AB policlonal, en el segundo paso del procedimiento se evalúa el efecto sobre la avidez de los siguientes volúmenes de NaCl al 10%: 0.025- 0.05- 0.075- 0.1- 0.125- 0.15-0.175- 0.2- 0.225- 0.25 mL frente a hematíes de los fenotipos A1 y B.⁵

2.3 Evaluación de la calidad de un lote del reactivo anti-AB policlonal.

Con el objetivo de realizar una evaluación de la calidad a un lote de reactivo hemoclasificador anti-AB policlonal producido en el Banco de Sangre Provincial de Cienfuegos según la metodología propuesta, se desarrollan los ensayos funcionales establecidos por el CEDMED para la evaluación de los reactivos hemoclasificadores policlonales del sistema de grupos sanguíneos humanos ABO². (anti-A, anti –B y anti - AB).

2.3.1 Equipos, materiales y reactivos

Equipos

- ❖ Centrifuga Hettich. Universal 32
- ❖ Baño de María. Precistern

- ❖ Termómetro
- ❖ Timer
- ❖ Contador de colonias. Retomed CC-05
- ❖ Cronómetro

Materiales

- ❖ Lámina de acrílico
- ❖ Pipetas 100 λ .
- ❖ Tubos de ensayo 13 x100 mm
- ❖ Gradilla para tubos
- ❖ Puntas amarillas

Reactivos

- ❖ Reactivo hemoclasificador anti-AB (producto terminado). Lote: 030602
- ❖ Reactivo hemoclasificador anti-AB monoclonal. Lote: 0501. Centics Diagnóstico
- ❖ Suspensión al 5 % de eritrocitos de grupo A1, B y O
- ❖ Suero Antiglobulínico Humano (Coombs), Lote: 7401 Laboratorio BETERA
- ❖ Solución salina 0.9%. Lote: 05082207

2.3.2 Los parámetros que se evalúan son:

- ❖ Esterilidad

Para comprobar la esterilidad, debido a que el producto es de uso in-vitro, solamente se realiza la prueba en el medio de tioglicolato incubado a 30 °C-32 °C, durante 14 días. El volumen del material para la prueba no debe ser menor de 2 mL. Ver PNO de microbiología L-CC-01.²⁴

❖ **Potencia**

La potencia se determina en la técnica de tubo por centrifugación con 5 minutos de incubación entre 20 y 30 °C. Se utiliza como diluyente salina con albúmina bovina al 2 % y suspensión de los eritrocitos al 5 % .² La técnica utilizada se describe a continuación:

1. En una gradilla se colocan 10 tubos y se marcan cada uno en orden ascendente en el siguiente orden: P (puro), 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256, 1:512.
2. A partir del segundo tubo se añade a cada uno 0.1 mL de solución salina y albúmina bovina al 2 %. En el primer y segundo tubo se añade 0.1mL del suero a titular (anti-AB policlonal). Con una punta limpia se mezcla el contenido del segundo tubo y se transfiere 0.1mL de este al tercer tubo, se cambia la punta de la pipeta y se mezcla el contenido del tercer tubo y se transfiere 0.1mL de este al cuarto y así sucesivamente hasta el último tubo. El volumen que se extrae de este último se conserva en un tubo limpio por si se necesita continuar con la titulación.
3. Añadir a todos los tubos 0.1 mL de la suspensión al 5% de los eritrocitos que presenten el antígeno específico para el anticuerpo para titular.
4. Mezclar e incubar a temperatura adecuada y el tiempo requerido: Ejemplo para la titulación de anticuerpos anti-AB, la incubación se realiza a temperatura ambiente durante 15 minutos.
5. Centrifugar los tubos 1 minuto a 1000 r.p.m. o de 20 a 30 segundos a 2500 r.p.m.
6. Leer resuspendiendo el botón suavemente. Observar la presencia de aglutinación en el contador de colonia, anotar los resultados expresándolos en grados de aglutinación como en el inciso anterior. El título de anticuerpos es el recíproco de la última dilución en que se observa aglutinación visible. Ejemplo: Si el último tubo donde se observa aglutinación es en la dilución 1:32 el título se informa como 32.

El número de muestras por fenotipo requeridas para los ensayos de potencia y avidéz de los hemoclasificadores anti-A, anti-B y anti-AB será el indicado en la Tabla 1.

Tabla 1. Número de muestras por fenotipo requerido para los ensayos de potencia y avidéz de los hemoclasificadores anti- A, anti-B y anti-AB.²

Reactivos	Fenotipos ABO y cantidad de muestras a utilizar en el ensayo				
	A1	A2	A1B	A2B	B
Anti-A	1			3	
Anti-B			3		1
Anti-AB	1	2			2

❖ Avidéz

La avidéz se precisa a través de la técnica de hemoaglutinación en lámina de acrílico utilizando los métodos recomendados por el CECMED para la evaluación de los reactivos hemoclasificadores.²

Al mezclar en una lámina y a temperatura ambiente un volumen del reactivo con un volumen de la suspensión al 40% de los eritrocitos en salina, se deben observar aglutinados en un intervalo no mayor de 60 segundos. Los aglutinados no deben ser menores que 1 mm de diámetro a los 2 minutos, según inspección visual. Los fenotipos del panel de eritrocitos que se utiliza esta compuesto por: grupos A₁, B y O.

❖ Especificidad

Para conocer la intensidad de la reacción se coloca una gota de la suspensión de hematíes en una lámina de acrílico y se mezcla con una gota del reactivo, al completar un minuto, se evalúa el tamaño de los cúmulos de aglutinación, según los grados de la reacción de aglutinación.

Grados de la reacción de aglutinación¹⁶: Valores numéricos y puntuación que se le asignan a la intensidad de la aglutinación y se expresan de la siguiente forma.

- ❖ 4+: Aglutinación total de los eritrocitos en un solo cúmulo grande en un fondo claro (Puntuación 12).
- ❖ 3+: Dos o tres aglutinados grandes en un fondo claro. (Puntuación 10).
- ❖ 2+: Aglutinados pequeños, de igual tamaño, en un fondo rojo (Puntuación 8).
- ❖ 1+: Aglutinados muy pequeño, pero definidos, en un fondo rojo. (Puntuación 5).
- ❖ ± Pequeño aglutinados no definidos, que pueden resultar dudosa (Puntuación 3).
- ❖ 0; No Aglutinación (Puntuación 0).

Por otra parte se comprueba la ausencia de reactividad frente a otros grupos sanguíneos, se utilizan hematíes que expresan los siguientes fenotipos K, D, C E, c, e, mediante el método de Coombs indirecto, el cual se describe a continuación:

1. En tubos de ensayos de 13 x 100 mm mezclar 3 gotas del suero problema (anti-AB policlonal), 2 gotas de los hematíes del panel.
2. Incubar a 37 °C durante 30 minutos.
3. Lavar los hematíes 3 veces con solución salina abundante, decantar el último lavado.
4. Añadir una gota de suero antiglobulínico IgG.
5. Centrifugar 1 minuto a 1500 r.p.m.

6. Agitar suavemente el último tubo y examinar microscópicamente en busca de la aglutinación.
7. Controles positivos: consiste en verter 2 gotas de la suspensión de hematíes del antisuero correspondiente. Ej. O + con reactivos anti –D y se procesa por igual que las demás muestras. Se deben observar aglutinados en los controles positivos, de lo contrario hay que repetir el ensayo.

El número mínimo de muestras por fenotipo requerido para determinar la especificidad de los hemoclasificadores anti-A, anti-B y anti-AB será el indicado en la Tabla 2.

Tabla 2. Número mínimo de muestras por fenotipo requeridas para determinar la especificidad de los hemoclasificadores anti-A, anti-B y anti-AB. Reactivos Fenotipos ABO y cantidad de muestras para el ensayo.²

Reactivos	Fenotipos ABO y cantidad de muestras para el ensayo					
	A1	A2	A1B	A2B	B	O
Anti-A	2			2	2	2
Anti-B	2		2		2	2
Anti-AB	1	2			2	4

El personal del departamento de Aseguramiento de la Calidad responsable de la evaluación del reactivo se entrena con el objetivo de que conozca los procedimientos necesarios para realizar esta actividad.

2.4 Evaluación en paralelo del reactivo anti – AB policlonal con el reactivo Anti-AB monoclonal.

Con la intención de completar la evaluación de la calidad del producto terminado, se desarrolla una evaluación en paralelo del reactivo anti – AB policlonal con el reactivo Anti-AB monoclonal producido por Centics Diagnóstico en cuanto a los siguientes requisitos:

- Título
- Aidez
- Grados de aglutinación de la reacción

Los cuales se evalúan por las técnicas antes recomendadas.

RESULTADOS Y DISCUSION

3.1 Descripción del procedimiento.

El procedimiento descrito en la investigación explica cómo realizar las operaciones y la metodología a utilizar en el desarrollo de los ensayos funcionales de los lotes producidos que son entregados al departamento de Aseguramiento de la Calidad. Así como toda la documentación correspondiente con los registros de trazabilidad, solicitud de ensayos y protocolo de liberación que son entregados al Departamento de Aseguramiento de la Calidad para su liberación, evitando los errores.

BANCO DE SANGRE PROVINCIAL DE CIENFUEGOS

Título: Metodología para la producción de reactivos hemoclasificadores policlonales ABO	PNO: P-PS-02	
	Pág. 1 de 29	
	Revisión:01	
	Fecha: 12-06-06	
Aprobado por:	Sustitución	
Firma:	Página	Fecha

1- Objetivo

Este procedimiento normalizado de operaciones regula la metodología para el proceso de producción de reactivos hemoclasificadores policlonales en el Banco de Sangre Provincial de Cienfuegos, y establece las especificaciones que deben tener los tres tipos de reactivos hemoclasificadores policlonales denominados Anti A, Anti B y Anti AB, que se utilizan para la clasificación de la sangre humana del tipo ABO.

2-Alcance.

Este procedimiento se aplicará en el Banco de Sangre Provincial de Cienfuegos por el personal que labora en el departamento de producción.

3-Términos y definiciones.

3.1 Reactivos hemoclasificadores: Son los productos utilizados en la determinación de los antígenos de los grupos sanguíneos eritrocitarios.

3.2 Policlonales. Son aquellos diagnósticos obtenidos por inmunización a humanos o a animales con antígenos de los grupos sanguíneos.

3.3 Avidez. Es el tiempo que media entre la mezcla del reactivo con los eritrocitos y la aparición de la aglutinación.

Título: Metodología para la producción de reactivos hemoclasificadores policlonales ABO	PNO: P-PS-02	
	Pág. 2 de 29	
	Revisión:01	
	Fecha: 12-06-06	
Aprobado por:	Sustitución	
Firma:	Página	Fecha

3.4 Especificidad. La capacidad del producto para identificar correctamente las muestras carentes del antígeno en cuestión.

3.5 Potencia. Es el recíproco de la mayor dilución del reactivo que provoca una reacción de aglutinación de 1+.

3.6 Proceso: Se entiende por proceso el conjunto de actividades relativas a la obtención, elaboración, fabricación, preparación, liberación, conservación, envasado, manipulación, transporte, distribución, importación, exportación, almacenamiento y suministro al cliente del reactivo.

3.7 Lote: Número de unidades del mismo diseño y formulación, fabricados al mismo tiempo, utilizando el mismo proceso y materias primas.

3.8 °C. Símbolo utilizado en este documento como abreviatura de grados Celsius.

3.9 **mL**. Símbolo utilizado en este documento como abreviatura de mililitro.

3.10 **mm**. Símbolo utilizado en este documento como abreviatura de milímetro.

3.11 **g/L**. Símbolo utilizado en este documento como abreviatura de gramos por litros.

3.12 **%**. Símbolo utilizado en este documento como abreviatura de por ciento.

3.13 **min**. Símbolo utilizado en este documento como abreviatura de minutos.

3.14 **r.p.m**. Símbolo utilizado en este documento como abreviatura de revoluciones por minutos.

Título: Metodología para la producción de reactivos hemoclasificadores policlonales ABO	PNO: P-PS-02	
	Pág. 3 de 29	
	Revisión:01	
	Fecha: 12-06-06	
Aprobado por:	Sustitución	
Firma:	Página	Fecha

3.15 s. Símbolo utilizado en este documento como abreviatura de segundos.

3.16 L. Símbolo utilizado en este documento como abreviatura de litro.

4-Responsabilidades.

4.1 Es responsabilidad del director del Banco de Sangre Provincial de Cienfuegos garantizar los recursos necesarios para la realización de la técnica descrita en este procedimiento.

4.2 Es responsabilidad del jefe de área de Producción garantizar el adiestramiento del personal técnico que labora en el departamento de Producción de Reactivos hemoclasificadores, así como su superación de forma continuada.

4.3 Es responsabilidad del jefe de área de producción hacer cumplir lo normado en este procedimiento.

4.4 Es responsabilidad del personal encargado de realizar esta técnica, cumplir con lo normado en este procedimiento.

4.5 Es responsabilidad del representante de Calidad de la Dirección ejercer vigilancia y auditoría, sobre la aplicación de las reglas establecidas en este procedimiento.

Título: Metodología para la producción de reactivos hemoclasificadores policlonales ABO	PNO: P-PS-02	
	Pág. 4 de 29	
	Revisión:01	
	Fecha: 12-06-06	
Aprobado por:	Sustitución	
Firma:	Página	Fecha

5. Condiciones de seguridad.

5.1 Se debe cumplir con lo establecido en el reglamento de Bioseguridad de Banco de Sangre Provincial de Cienfuegos en lo que se refiere a las normas de trabajo con material biológico Capítulo 2, Artículo 4.

6. Equipos, Materiales y Reactivos.

6.1 Equipos:

- 6.1.1 Flujo laminar. SKS Nylund AB.DPA –200 P
- 6.1.2 Selladora de tubuladura. Terumo teruflex tube escaler ACS-152.
- 6.1.3 Refrigerador. Sanyo TSE.
- 6.1.4 Congelador. Dometic MF280 (Medical System).
- 6.1.5 Centrífuga. HITACHI SCR7B.
- 6.1.6 Equipo de infusión
- 6.1.7 Contador de colonias. Retomed CC-05

6.2 Materiales

- 6.2.1 Gradilla para transportar bolsa
- 6.2.2 Pinza recta
- 6.2.3 Tijera

Título: Metodología para la producción de reactivos hemoclasificadores policlonales ABO	PNO: P-PS-02	
	Pág. 5 de 29	
	Revisión: 01	
	Fecha: 12-06-06	
Aprobado por:	Sustitución	
Firma:	Página	Fecha

- 6.2.4 Bolígrafo
- 6.2.5 Nylon para los desechos
- 6.2.6 Jeringuilla desechable de 10 mL
- 6.2.7 Frascos de 2L
- 6.2.8 Adaptadores plásticos
- 6.2.9 Tubos de ensayo 13 x 100 mm
- 6.2.10 Torundas de algodón
- 6.2.11 Vía de aire. Aguja 21
- 6.2.12 Pipetas de 1 mL
- 6.2.13 Soporte metálico
- 6.2.14 Frascos estériles de cristal de 5 mL (con goteros)
- 6.2.15 Micropipeta
- 6.2.16 Porta suero de tela

6.3 Reactivos

- 6.3.1 Azida sódica 10 %
- 6.3.2 Solución de Kaolín 5%
- 6.3.4 Solución colorante de los hemoclasificadores
 - ❖ Color rojo: fuchsine 2%

Título: Metodología para la producción de reactivos hemoclasificadores policlonales ABO	PNO: P-PS-02	
	Pág. 6 de 29	
	Revisión:01	
	Fecha: 12-06-06	
Aprobado por:	Sustitución	
Firma:	Página	Fecha

❖ Color amarillo: Acriflavina clorhidrato 2%

❖ Color azul: Erioglaucine 2%

6.3.5 Solución collodiom puro. Resina selladora

6.3.6 Alcohol etílico al 76 %

6.3.7 Cloruro de sodio al 10%

7. Operación preliminar.

7.1 Buscar la bolsa de plasma a utilizar ubicada en el congelador en la gaveta de productos liberados verificando que la misma se corresponda con el tipo de hemoclasificador a producir (anti A, anti B, anti AB) , seleccionando la de mayor tiempo de almacenamiento , y comprobando en la documentación de la misma que provenga de donadores sanos negativos a las pruebas del antígeno del virus de la Hepatitis B y a los anticuerpos del virus del Síndrome de Inmunodeficiencia Humana Adquirida y anticuerpos del virus de la Hepatitis C y TGP menor de 25 unidades , y ensayo microbiológico negativo. Debe tener además un título del anticuerpo específico no menor de 1:128. (Ver anexo B)

7.2 Si se detecta algún error en la documentación de la bolsa seleccionada, colocarla en el congelador en la gaveta de cuarentena hasta verificar el mismo. En caso de rotura trasladar la misma al departamento de descontaminación.

Título: Metodología para la producción de reactivos hemoclasificadores policlonales ABO	PNO: P-PS-02	
	Pág. 7 de 29	
	Revisión:01	
	Fecha: 12-06-06	
Aprobado por:	Sustitución	
Firma:	Página	Fecha

7.3 Si la inspección realizada a la bolsa de plasma cumple satisfactoriamente los parámetros antes mencionados almacenar la misma en el refrigerador a una temperatura de 6 ± 2 °C por 24 horas.

7.4 Localizar todos los materiales y reactivos de acuerdo al paso del procedimiento que se vaya a realizar.

8. Procedimiento.

8.1 Primer paso.

8.1.1 Trasladar la bolsa seleccionada hacia el área estéril y colocarla bajo flujo laminar.

8.1.2. Realizar la conversión de plasma en suero de la siguiente forma:

8.1.2.1 Colocar la bolsa en el compresor de plasma, pinzar tubuladura por zona intermedia más cercana al extremo final y desinfectar el mismo utilizando una pinza y torunda de algodón con solución de alcohol etílico al 76%.

8.1.2.2 Con ayuda de una tijera cortar el extremo superior de la tubuladura e introducir la tijera en solución desinfectante (alcohol etílico al 76 %) y el extremo de la tubuladura depositarlo en el recipiente de desechos

8.1.2.3. Localizar el frasco de kaolín retirar la tapa metálica e introducir aguja de una jeringuilla desechable de no menos de 10 mL en el frasco y extraer 9 mL de esta solución, retirando la aguja del interior del frasco.

Título: Metodología para la producción de reactivos hemoclasificadores policlonales ABO	PNO: P-PS-02	
	Pág. 8 de 29	
	Revisión:01	
	Fecha: 12-06-06	
Aprobado por:	Sustitución	
Firma:	Página	Fecha

8.1.2.4. Abrir pinza y añadir la solución de kaolín al interior de la bolsa, cerrar la pinza y homogeneizar suavemente.

8.1.2.5. Localizar el frasco de azida sódica retirar la tapa metálica e introducir aguja de una jeringuilla desechable de no menos de 10 mL en el frasco y extraer 6 mL de esta solución, retirando la aguja del interior del frasco.

8.1.2.6 Abrir pinza y añadir la solución de azida sódica al interior de la bolsa, cerrar la pinza y homogeneizar suavemente.

8.1.2.7 Sellar el extremo de la tubuladura de la bolsa utilizando la selladora de tubuladura y retirar la pinza.

8.1.2.8. Colocar la bolsa en sobre de nylon y trasladarla a un Baño de María a una temperatura de 37 °C por un tiempo no menor de 30 min.

8.1.2.9 Almacenar en el refrigerador a una temperatura de 6 ± 2 °C por 24 horas.

8.1.2.10 Anotar la fecha de inicio de la producción en el registro de trazabilidad correspondiente. (Ver anexo B).

8.2 Segundo paso.

8.2.1 Localizar bolsa utilizada en el paso anterior, extraerla del refrigerador, y protegida aún por el nylon poner en Baño de María por 30 min a 56 °C

Título: Metodología para la producción de reactivos hemoclasificadores policlonales ABO	PNO: P-PS-02	
	Pág. 9 de 29	
	Revisión:01	
	Fecha: 12-06-06	
Aprobado por:	Sustitución	
Firma:	Página	Fecha

8.2.2 Revisar el contenido de la bolsa, comprobar la formación del coágulo y retirar el nylon.

8.2.3 Centrifugar la bolsa por 5 min. a 3000 r.p.m. y a una temperatura de 4°C.

8.2.4 Pasar al área estéril la bolsa, el frasco de 2 L y los adaptadores y poner bajo flujo laminar.

8.2.5 Colocar la bolsa en el compresor y ubicar la pinza en una zona media de la tubuladura cercana al extremo y desinfectar el mismo utilizando una pinza y torunda de algodón con solución de alcohol etílico al 76%.

8.2.6 Retirar la zona superior de la tapa metálica del frasco de 2L perforando el tapón de goma con el adaptador y una vía de aire.

8.2.7 Cortar el extremo de la tubuladura de la bolsa manteniendo la pinza cerrada.

8.2.8 Retirar la bolsa del compresor e introducir el extremo de la tubuladura en el adaptador ubicado en la parte superior de la tapa del frasco de 2L, colocar la bolsa en posición vertical hacia abajo Sujetando con una mano la parte de la bolsa que queda hacia arriba y que contiene el coágulo, abrir la pinza, decantar el suero hacia el interior del frasco, garantizando la extracción de todo el suero hacia el frasco de 2 litros.

8.2.9 Sellar el extremo de la tubuladura de la bolsa que contiene el coágulo y colocar la misma en nylon destinado al material de descontaminación.

Título: Metodología para la producción de reactivos hemoclasificadores policlonales ABO	PNO: P-PS-02	
	Pág. 10 de 29	
	Revisión:01	
	Fecha: 12-06-06	
Aprobado por:	Sustitución	
Firma:	Página	Fecha

8.2.10 Añadir al suero depositado en el frasco de 2 litros la solución colorante utilizando una jeringuilla desechable de 10 mL en proporción de 1mL por cada 500 mL de suero escogiendo el reactivo de acuerdo al hemoclasificador que se este produciendo según las especificaciones del mismo y homogeneizar. (Ver anexo E).

8.2.11 Utilizando una jeringuilla desechable tomar muestra de 2 mL en tubo de ensayo estéril con medio de tioglicolato para posterior análisis microbiológico (Ver PNO L-CC-01), tomar una muestra de 10 mL en un frasco de cristal estéril para posterior desarrollo del método del potenciador (Ver anexo A).

8.2.12 Retirar adaptador y vía de aire del frasco de 2 litros, colocar una torunda de algodón en el extremo de una pinza y añadir collodim y frotar por el tapón. Colocar tapa metálica, rotular el frasco con el número de la historia clínica y la fecha de preparación.

8.2.13 Colocar el frasco de 2L en el refrigerador a una temperatura de 6 ± 2 °C y entregar la muestra al laboratorio de microbiología junto al modelo de solicitud de ensayo. (Ver anexo C) esperar los resultados.

8.2.14 Reflejar en el registro de trazabilidad del producto correspondiente los datos necesarios para el segundo paso del proceso de producción.

Título: Metodología para la producción de reactivos hemoclasificadores policlonales ABO	PNO: P-PS-02	
	Pág. 11 de 29	
	Revisión:01	
	Fecha: 12-06-06	
Aprobado por:	Sustitución	
Firma:	Página	Fecha

8.3 Tercer paso.

8.3.1 Localizar el frasco de 2L almacenado en el paso anterior.

8.3.2 Trasladar el frasco de 2L hacia el área estéril y colocar bajo flujo laminar.

8.3.3 Analizar el volumen del frasco y calcular la cantidad de solución de cloruro de sodio al 10% de acuerdo al resultado del método del potenciador.

8.3.4 Retirar de la zona superior del frasco la tapa metálica perforando el tapón de goma con jeringuilla desechable y añadir la cantidad de solución de cloruro de sodio al 10% según cálculo anterior y homogeneizar.

8.3.5 Colocar el frasco de 2 L dentro del porta suero de tela y colocar en posición vertical hacia abajo, colgándolo del soporte metálico.

8.3.6 Localizar equipo de infusión y perforar con la aguja el tapón para vía de aire.

8.3.7 Pinzar tubuladura y cortar por el extremo del equipo.

8.3.8 Localizar frascos con goteros estériles, destapar uno a uno cada frasco.

8.3.9 Dispensar 5 mL de volumen en cada frasco y tapar inmediatamente hasta agotar todo el volumen del frasco.

8.3.10 Separar para análisis microbiológico y ensayo funcional tres frascos, una muestra se obtendrá al inicio, una intermedia y al final del proceso de llenado.

8.3.11 Trasladar los frascos y demás instrumentos fuera del área estéril.

Título: Metodología para la producción de reactivos hemoclasificadores policlonales ABO	PNO: P-PS-02	
	Pág. 12 de 29	
	Revisión:01	
	Fecha: 12-06-06	
Aprobado por:	Sustitución	
Firma:	Página	Fecha

8.3.12 Entregar los frascos a microbiología y control de la calidad para ensayo funcional y adjunto el modelo de solicitud ver anexo (C), los demás frascos colocarlos en cajas identificadas, almacenar en refrigerador en área de cuarentena a una temperatura 6 ± 2 ° C y esperar 14 días hasta obtener los resultados de microbiología y ensayo funcional.

8.3.13 Reflejar en el registro de trazabilidad del producto correspondiente los datos necesarios para el tercer paso del proceso de producción.

8.4 Cuarto paso.

8.4.1 Si el resultado del ensayo funcional y análisis microbiológico están dentro de los parámetros establecidos (ver anexo D y E), se procede a poner etiqueta a cada frasco siguiendo los requisitos expuestos en el anexo E.

8.4.2 Confeccionar protocolo del producto a liberar según anexo F.

8.4.3 Informar al departamento de aseguramiento de la calidad para que revise toda la documentación y el producto a liberar.

8.4.4. El productor retendrá como mínimo tres muestras del lote y las conservará en las condiciones por él recomendadas 6 meses después de la fecha de vencimiento del producto.

8.4.5 Reflejar en el registro de trazabilidad del producto correspondiente los datos necesarios para el cuarto paso del proceso de producción.

Título: Metodología para la producción de reactivos hemoclasificadores policlonales ABO	PNO: P-PS-02	
	Pág. 13 de 29	
	Revisión:01	
	Fecha: 12-06-06	
Aprobado por:	Sustitución	
Firma:	Página	Fecha

13. Referencias / Documentos Aplicables

- 13.1 PNO 0.001 “Metodología para la elaboración, revisión, aprobación y modificación de los Procedimientos Normalizados de Operación. CECMED.
- 13.2 PNO G-AC-01 “Metodología para la elaboración de Procedimientos Normalizados de Operaciones. Rev.02. Año 2002. Banco de Sangre Provincial de Cienfuegos.
- 13.3 NRSP 053/1979. Reactivos hemoclasificadores anti-A. Proceso para su elaboración y obtención. Proceso tecnológico. Aprobada. Abril 1980.
- 13.4 Regulación 4 -96 . “Buenas Prácticas para Bancos de Sangre” . CECMED. 1996
- 13.5 Reglamento de Bioseguridad del Banco de Sangre Provincial de Cienfuegos.
- 13.6 PNO L-CC-01"Medio de tioglicolato".Rev.02. Año 2000. Banco de Sangre Provincial de Cienfuegos.

3.2 Resultados de la aplicación de la metodología propuesta.

Es indiscutible la superioridad del procedimiento implementado con respecto a la Norma Cubana⁵ del año 1979 que existía hasta el momento, debido a que en los últimos años han surgido nuevas normas, regulaciones y resoluciones ministeriales que son emitidas por el CEDMED y el Ministerio de Salud Pública las cuales han sido incorporadas al procedimiento y que son de vital importancia para el proceso de producción.

En la Norma Cubana⁵, el proceso de producción comienza a partir de sangre total lo que es una técnica muy invasiva para el donante. Los pasos críticos del proceso de producción no son detallados y no se plantea trabajar bajo flujo laminar. Las unidades de medidas no están acordes con las existentes actualmente. Los ensayos funcionales que se deben realizar no lo suficientemente precisos, ya que no enumera las muestras a utilizar, y para la esterilidad no especifica el medio de cultivo, y tampoco el tiempo de incubación. La etiqueta del reactivo no cumple con los requisitos del rotulado de los diagnósticos¹² establecidos por el CEDMED.

Este procedimiento se puso en práctica durante la producción de un lote del reactivo anti-AB para el cual se utilizó la bolsa de plasma anti-AB con historia clínica número 014HAB-1 con el propósito de validar el procedimiento. Para este propósito se adiestró al personal necesario y se crearon los documentos que soportan esta actividad para cumplir con las Buenas Prácticas de Producción.

Método del potenciador.

A la formulación del hemoclasificador anti-AB policlonal para incrementar la avidéz y el grado de la reacción de aglutinación se le deben adicionar 0.125 mL de NaCl al 10% por cada 1 mL de suero. (Tabla #1)

Tabla # 1. Aidez del reactivo hemoclasificador anti-AB policlonal con cantidades crecientes de NaCl al 10%.

Fenotipo	Volumen de NaCl al 10% (mL)									
	0.025	0.05	0.075	0.1	0.125	0.15	0.175	0.2	0.225	0.25
A 1	20	18	14	10	6	12	20	25	28	30
B	15	13	12	12	5	9	17	20	22	25

3.3 Evaluación de la calidad del producto terminado.

En la Norma Oficial Mexicana²⁵ del año 1993 se reporta que cada lote del reactivo debe ser probado por el fabricante por los métodos por él recomendados al usuario en la etiqueta y en el instructivo de uso.

El producto final debe ser estéril, transparente y libre de partículas y contener un conservador que podrá ser azida sódica al 0.1%.^{2, 16, 25}

Los ensayos funcionales realizados al producto terminado permiten valorar la calidad del producto final del lote anti-AB, en el Departamento de Aseguramiento de la Calidad del BSP Cienfuegos, así como la evaluación en paralelo con el reactivo anti-AB de origen monoclonal producido por Centics Diagnóstico.

Determinación de la esterilidad.

Durante el tiempo de incubación no se observó crecimiento microbiano en ninguno de los tres frascos del lote del reactivo anti-AB policlonal producido. (Tabla # 2)

Tabla # 2. Esterilidad de los tres frascos del reactivo hemoclasificador anti-AB policlonal incubado en el medio de tioglicolato durante 14 días.

No. de frascos ensayados	Tiempo de incubación en tioglicolato			
	24 horas	72 horas	7 días	14 días
1	SCB	SCB	SCB	SCB
2	SCB	SCB	SCB	SCB
3	SCB	SCB	SCB	SCB

Leyenda: SCB: Sin Crecimiento Bacteriano.

Determinación de la potencia.

El título de cada frasco del reactivo frente a los eritrocitos A1 es de 1:128, mientras que con los eritrocitos B en las dos muestras ensayadas el título es de 1:256. (Tabla # 3)

Tabla # 3. Título de los tres frascos del reactivo hemoclasificador anti-AB policlonal frente a un panel de hematíes de fenotipos diferentes.

Fenotipos	No. de muestra	Título		
		Frasco # 1	Frasco # 2	Frasco # 3
A1	1	1:128	1:128	1:128
B	2	1:256	1:256	1:256

Determinación de la avidéz.

El tiempo que demoró en aparecer la aglutinación no superó los 5 segundos en cada uno de los hematíes de prueba. Según la inspección visual los aglutinados son mayores de 2 mm de diámetro antes los 60 segundos. (Tabla # 4)

Tabla # 4. Ensayo de avidéz de los tres frascos del reactivo hemoclasificador anti-AB policlonal frente a los hematíes de prueba.

Fenotipo	No. de muestra	Tiempo de aglutinación en segundos		
		Frasco # 1	Frasco # 2	Frasco # 3
A1	1	5	5	4
B	1	4	3	4
	2	3	3	3

Determinación de la especificidad.^{2, 16}

En cuanto a la especificidad se plantea que debe reaccionar con al menos 2+ de aglutinación con todas las muestras que contengan el antígeno específico y no debe reaccionar con eritrocitos carentes del antígeno y no presentarán anticuerpos contra los antígenos de los grupos sanguíneos: H, I, Lea, Leb, K, k, Kpb, Js b P1, D, C, c, E, e, Cw, M, N, S, s, U, Lub, Jka Jkb, Fya, Fyb, Xga.

En todas las muestras utilizadas que contienen el antígeno específico el grado de reacción de aglutinación no es menor que 3+ según los grados de la reacción de aglutinación. (Tabla # 5)

Tabla # 5. Grados de la reacción de aglutinación de los tres frascos del reactivo hemoclasificador anti-AB policlonal frente a un panel de hematíes de fenotipos diferentes.

Fenotipos	No. de muestras	Grados de aglutinación		
		Frasco # 1	Frasco # 2	Frasco # 3
A1	1	3+	3+	3+
B	1	4+	4+	4+
	2	4+	4+	4+
O	1	0	0	0
	2	0	0	0
	3	0	0	0
	4	0	0	0

No existió reacción con los eritrocitos carentes del antígeno. No se detectaron anticuerpos al enfrentar el reactivo a un panel de células compuesto por: K, D, C, c, E ,e.

3.4 Evaluación en paralelo del reactivo anti – AB policlonal con el reactivo Anti-AB monoclonal.

Una evaluación en paralelo del producto final con el reactivo anti-AB de origen monoclonal producido por Centics Diagnóstico, el cual posee número de lote 0501 y fecha de vencimiento 08/07 fue desarrollada con el fin de corroborar la calidad del producto terminado.

Se obtuvo un título de 1:512 con las muestras eritrocitos A1 y B para el reactivo monoclonal de referencia, mientras que el título del reactivo anti-AB policlonal para las muestras eritrocitos A1 es de 1:128 y para las muestras de eritrocitos B es de 1:256. (Tabla # 6)

Los resultados demuestran la potencia del reactivo anti-AB obtenido ya que según las recomendaciones del CEDMED un reactivo anti-AB para su evaluación como hemoclasificador debe tener un título no menor de 64 con una muestra de eritrocitos A1 y dos muestras de eritrocitos B.^{2.16}

Según la Norma Oficial Mexicana y las Recomendaciones del CEDMED para la evaluación de los diagnósticos, en el ensayo funcional de avidéz, la aglutinación debe ocurrir en un intervalo no mayor de 60 segundos y los cúmulos no serán menores que 1 mm de diámetro a los 2 minutos según inspección visual.^{2.16}

La avidéz e intensidad de la reacción en cada una de las muestras ensayadas se comportaron de forma similar. La aglutinación ocurrió en un tiempo máximo de 5 segundos y el tamaño de los cúmulos finales fue mayor de 2 mm de diámetro en un fondo claro, lo que nos permite evaluar la intensidad de la aglutinación de 3+ y 4+ en cada una de las muestras ensayadas. (Tabla # 6)

Estos resultados se consideran satisfactorios y demuestran la calidad del producto terminado, debido a que los parámetros evaluados se comportaron de forma similar a los del reactivo anti-AB de origen monoclonal, superando los requisitos de potencia, avidéz e intensidad de la reacción establecidos por el CEDMED para la evaluación de los reactivos hemoclasificadores. (Tabla # 6)

Tabla # 6. Evaluación en paralelo del reactivo anti-AB policlonal con el reactivo Anti-AB de origen monoclonal.

Origen del reactivo	Fenotipos	Título	Avidez	Grados de aglutinación
Policlonal	A1	1:128	5 seg.	3+
	B	1:256	4 seg.	4+
	O	-	-	-
Monoclonal	A1	1:512	3 seg.	3+
	B	1:512	4 seg.	3+
	O	-	-	-

CONCLUSIONES

1. Se implementó un procedimiento el cual resultó eficaz para el proceso de producción de los reactivos hemoclasificadores policlonales ABO.
2. La evaluación de la calidad realizada al lote del reactivo anti-AB policlonal cumple con los parámetros de esterilidad, especificidad, potencia y avidéz establecidos por el CEDMED para la evaluación de los reactivos hemoclasificadores.
3. La evaluación en paralelo desarrollada con el reactivo anti-AB de origen monoclonal cumple con los requisitos de potencia, avidéz e intensidad de la reacción.

RECOMENDACIONES

1. Introducir en el departamento de Aseguramiento de la Calidad los ensayos funcionales establecidos por el CEDMED para la evaluación de los reactivos hemoclasificadores policlonales y monoclonales del sistema de grupos sanguíneos humanos ABO.
2. Poner a prueba el procedimiento por un período de un año.
3. Evaluar la postcomercialización del reactivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Suárez, B. L , Hernández, S . A, Rivero, J. R , Bencomo, H. A, Rodríguez O. T. Sistema analítico de evaluación de la actividad biológica del reactivo hemoclasificador HEMO-CIN ANTI-A. Instituto de Hematología e Inmunología. Centro de Inmunología Molecular. La Habana. Cuba. [25 de junio de 2005]. Disponible en:
[http:// www.bus.sld.cu/revistas/hih/vol16-2-00/hih08200.htm*tt*](http://www.bus.sld.cu/revistas/hih/vol16-2-00/hih08200.htm*tt*).
2. ROS -08-12-1997. Recomendaciones para la evaluación de los diagnósticos para uso en Inmunoematología. CEDMED.1997.
3. Asociación Americana de Bancos de Sangre. Grupos Sanguíneos ABO. H y Lewis y antígenos relacionados estructuralmente. En : Virginia Vengelen-Tyler. Manual Técnico. 12 edición. Buenos Aires, Argentina: Servigraf ; 2004. p. 227-249.
4. Rivero, J. R. Anticuerpos monoclonales anti - Rh (D): Antecedentes y estado actual. [25 de junio de 2005]. Disponible en:
<http://www.medicalexpress.com/hematologia/default.htm>.
5. NRSP 053/1979. Reactivos Hemoclasificadores Anti-A. Proceso para su elaboración y obtención. Proceso tecnológico. Aprobada 1980.
6. Reactivos Tipificadores Monoclonales para tipificación de grupos sanguíneos Anti-A, Anti-B, Anti-AB. Instituto de Hematología e Inmunología. Centro de Inmunología Molecular. La Habana. Cuba. [25 de junio 2005]; Disponible en:
[http:// www.bus.sld.cu/revistas/hih/vol16-2-00/hih08200.htm*tt*](http://www.bus.sld.cu/revistas/hih/vol16-2-00/hih08200.htm*tt*)
7. Determinación del grupo sanguíneo. [25 de junio de 2005]. Disponible en:
<http://www.arrakis.es/~rfluengo/gruposanguineo.htm>.
8. Rivero, J. R , Suárez, B . L , Bencomo, H . A , González , S . R , González , G . J, Palma S. L . et al. Generación de un hibridoma de ratón secretor de anticuerpos monoclonales contra el antígeno del grupo sanguíneo A del sistema ABO humano. Instituto de Hematología e Inmunología. Ciudad Habana . Cuba . 1994.

9. Factor Rh. [25 de junio de 2005]. Disponible en:
<http://www.nacersano.org/centro/9388-9973.asp>.
10. Determinación del grupo sanguíneo. 2001.[19 de mayo de 2005]; Disponible en
<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/003345.htm#top>
11. Asociación Americana de Bancos de Sangre. Sangre y componentes. En : Virginia Vengelen-Tyler . Manual Técnico. 12 edición. Buenos Aires, Argentina: Servigraf; 2004. p.133-156.
12. Regulación 7-94. Requisitos de Rotulado de los Diagnósticos. CEDMED. 1994.
13. Regulación No.8-2001. Requisitos Generales para el Registro de los Diagnósticos. CEDMED. 2001.
14. Regulación No 3-95. Buenas Prácticas de Laboratorio Clínico. CEDMED.1995.
15. Rodríguez García L. Estrategia para el desarrollo del sistema de calidad del Laboratorio de Medio Ambiente. [Tesis de Grado]. Universidad Central " Martha Abreu " de las Villas. 2003.
16. Ballester, S. T, Alfonso, U. M, Ballester, P. L , Bencomo H. A, Cortina R. L, Macías A . C. et al. Procederes para Bancos de Sangre y Servicios de Transfusión. La Habana: Organización Panamericana de la Salud ; 2004. p.73-79.
17. ISO 8402. Gestión de la Calidad y Aseguramiento de la Calidad. Vocabulario.1994.
18. Regulación No. 4 - 96 : " Buenas Prácticas para Bancos de Sangre ". 1996 .
19. Asociación Americana de Bancos de Sangre. Garantía de Calidad. En : Virginia Vengelen-Tyler. Manual Técnico. 12 edición. Buenos Aires, Argentina: Servigraf; 2004. p.1-19.
20. PNO 0.001 "Metodología para la elaboración, revisión, aprobación y modificación de los Procedimientos Normalizados de Operación. CECMED.
21. PNO G-AC-01 "Metodología para la elaboración de Procedimientos Normalizados de Operaciones. Rev. 02. Año 2002. Banco de Sangre Provincial de Cienfuegos.

22. NC 26-212. Buenas Prácticas de Laboratorio. Comité Estatal de Normalización y Ministerio de Salud Pública. 1992.
23. NC- ISO/IEC: 25. Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Calibración y Ensayo .1992.
24. PNO L-CC-01 "Medio de tioglicolato" Rev. 02. Año 2000. Banco de Sangre Provincial de Cienfuegos.
25. Norma Oficial Mexicana NOM-017-SSAI –1993, que establece las especificaciones sanitarias de los reactivos hemoclasificadores para determinar grupos del sistema ABO. Estados Unidos Mexicanos. Secretaria de Salud. 1994.

Título: Metodología para la producción de reactivos hemoclasificadores policlonales ABO	PNO: P-PS-02	
	Pág. 14 de 29	
	Revisión:01	
	Fecha: 12-06-06	
Aprobado por:	Sustitución	
Firma:	Página	Fecha

ANEXO A

Método del potenciador.

1. Para la determinación de la concentración de cloruro de sodio con la que se logra una mayor avidez, se toman 10 tubos de ensayo numerados, y con ellos se colocan cantidades progresivas de solución salina al 10%. En el primer tubo se agregan 0.025 mL, en el segundo tubo 0.05 mL en el tercero 0.075 mL, etc. Se agregará a cada tubo 1 mL de suero en estudio.
2. Se enfrenta el suero en cada mezcla a las células A1 y A2, A1B y A2B anotando el tiempo exacto en segundos desde el momento en que se mezclan el suero y las células hasta la presencia de la aglutinación perfectamente visible.
3. La mezcla del menor tiempo en segundos (siempre inferior a 15 seg.) en provocar la aglutinación visible es la seleccionada.

Por ejemplo:

Si la mezcla de 0.175 mL de solución salina al 10% con 1 mL de sangre es la más rápida debe agregarse 0.175 mL de solución salina al 10% a cada mililitro de suero.

Título: Metodología para la producción de reactivos hemoclasificadores policlonales ABO	PNO: P-PS-02	
	Pág. 15 de 29	
	Revisión:01	
	Fecha: 12-06-06	
Aprobado por:	Sustitución	
Firma:	Página	Fecha

ANEXO B

Registro de trazabilidad de cada suero hemoclasificador

REGISTRO DE TRAZABILIDAD PARA REACTIVOS						Folio
HEMOCLASIFICADORES POLICLONALES ANTI – AB.						
No de HC						
Lote de la donación						
Fecha de la donación						
Volumen inicial						
Título inicial						
Ensayo M.B Inicial						
Liberado por A.C						
Fecha de liberado						
PRIMER PASO						
Fecha de inicio						
SEGUNDO PASO						
Ensayo M.B						
Método del potenciador						
TERCER PASO						
Ensayo de M.B						
E. Func satisfactorio						
CUARTO PASO						
Folio del protocolo						
Fecha de Lib. por AC						
Observaciones						

Título: Metodología para la producción de reactivos hemoclasificadores policlonales ABO	PNO: P-PS-02	
	Pág. 16 de 29	
	Revisión:01	
	Fecha: 12-06-06	
Aprobado por:	Sustitución	
Firma:	Página	Fecha

ANEXO B -1

Instrucciones para el llenado.

Folio: Se colocará el folio consecutivo perteneciente al modelo, se comenzará por el número 1 al inicio de cada año.

No de HC: Se colocará el número de historia clínica correspondiente a la bolsa de plasma según etiqueta de la misma.

Lote de la donación: Se registrará el lote de la bolsa de plasma correspondiente según lo reflejado en la etiqueta de la misma.

Fecha de la donación: Se registrará la fecha de la donación reflejada en la etiqueta de la bolsa de plasma correspondiente.

Volumen inicial: Se registrará el volumen de la donación reflejada en la etiqueta de la bolsa de plasma correspondiente.

Título inicial: Se registrará el título del plasma que corresponde a la bolsa según informe de laboratorio.

Ensayo M.B Inicial: Se registrará el resultado del ensayo microbiológico de una muestra tomada de la bolsa de plasma, recién realizada la donación.

Liberado por A.C: Se reflejará con las siglas Lib, si la bolsa de plasma fue liberada por aseguramiento de la calidad como que proviene de un donante sano negativo a las pruebas del antígeno del virus de la Hepatitis B y a los anticuerpos del virus del Síndrome de Inmunodeficiencia Humana Adquirida y anticuerpos del virus de la Hepatitis C y TGP menor de 25 unidades.

Título: Metodología para la producción de reactivos hemoclasificadores policlonales ABO	PNO: P-PS-02	
	Pág. 17 de 29	
	Revisión:01	
	Fecha: 12-06-06	
Aprobado por:	Sustitución	
Firma:	Página	Fecha

ANEXO B-2

Instrucciones para el llenado.

Fecha de liberado: Se registrará la fecha en que la bolsa de plasma correspondiente fue liberada por aseguramiento de la calidad

Fecha de inicio: Se registrará la fecha en que se inicia la producción del suero hemoclasificador (Primer paso del proceso de producción del suero hemoclasificador).

Ensayo M.B: Se registrará el resultado del ensayo microbiológico de una muestra tomada de la bolsa de plasma durante el segundo paso del proceso.

Método del potenciador: Se anotará el resultado del método del potenciador (mL de NaCl al 10% que se necesitan para aumentar la avidéz por cada mL de suero).

Ensayo M.B: Se registrará el resultado del ensayo microbiológico de una muestra tomada de la bolsa de plasma durante el tercer paso del proceso.

E. Funcional: Se registrará con las siglas (satisfactorio o no satisfactorio) si los ensayos funcionales realizados al producto corresponden o no con las especificaciones de calidad descritas en este Proceder.

Folio del protocolo: Se registrará el número del folio del protocolo de liberación correspondiente a este producto.

Fecha de liberado por AC: Se registrará la fecha en que el suero hemoclasificador correspondiente fue liberado por aseguramiento de la calidad.

Observaciones: Se registrará cualquier incidencia ocurrida durante el proceso de producción del suero hemoclasificador.

NOTA: En cada registro se llevará la trazabilidad de 6 lotes.

Título: Metodología para la producción de reactivos hemoclasificadores policlonales ABO	PNO: P-PS-02	
	Pág. 18 de 29	
	Revisión:01	
	Fecha: 12-06-06	
Aprobado por:	Sustitución	
Firma:	Página	Fecha

ANEXO C

Solicitud de ensayo microbiológico y ensayo funcional.

Mod. Pro – BSP. Cfgos.	SOLICITUD DE ENSAYO	FOLIO:
PRODUCTO	TIPO DE ENSAYO	RESULTADOS
<p>Solicitado por: _____ Realizado por: _____ Revisado por: _____</p> <p>_____</p> <p>Dpto.: _____ Dpto.: _____ Dpto.: _____</p> <p>Fecha: _____ Fecha: _____ Fecha: _____</p>		

Título: Metodología para la producción de reactivos hemoclasificadores policlonales ABO	PNO: P-PS-02	
	Pág. 19 de 29	
	Revisión:01	
	Fecha: 12-06-06	
Aprobado por:	Sustitución	
Firma:	Página	Fecha

ANEXO C-1

Instrucciones para el llenado.

Folio: Se colocará el folio consecutivo perteneciente al modelo, se comenzará por el número 1 para cada lote de producción.

Producto: Se registrará el nombre del producto, etapa de la producción, número de historia clínica, número de lote, según proceda en cada paso de la producción.

Tipo de ensayo: Se registrará el tipo de ensayo que se solicite de acuerdo a las especificaciones de calidad del producto.

Resultados: Se registrarán los resultados por parte del personal que realiza el ensayo.

Solicitado por: Se registrará el nombre y apellidos de la persona que solicita el ensayo, el departamento al que pertenece y la fecha de la solicitud.

Realizado por: Se registrará el nombre y apellidos de la persona que realiza el ensayo, el departamento al que pertenece y la fecha.

Revisado por: Se registrará el nombre y apellidos de la persona que revisa el resultado del ensayo, el departamento al que pertenece y la fecha, en este caso debe ser el departamento de aseguramiento de la calidad.

Título: Metodología para la producción de reactivos hemoclasificadores policlonales ABO	PNO: P-PS-02	
	Pág. 20 de 29	
	Revisión:01	
	Fecha: 12-06-06	
Aprobado por:	Sustitución	
Firma:	Página	Fecha

ANEXO D

Especificaciones de calidad de los ensayos funcionales.

1. Esterilidad: Se registrará según proceda: sin crecimiento microbiano (SCB) o con crecimiento microbiano (CC).

2. Potencia

- El suero anti-A tendrá una potencia no menor que 64 con eritrocitos A1 y no menor que 16 con eritrocitos A2B.
- El suero hemoclasificador anti-B tendrá una potencia no menor que 64 con eritrocitos B y no menor que 32 con eritrocitos A1B.
- El suero hemoclasificador anti-AB tendrá un título no menor de 64 con eritrocitos A1 y B y no menor que 32 con eritrocitos A2.
- El suero que no cumpla con los requerimientos de potencia con alguna muestra en particular será analizado nuevamente con 4 muestras de eritrocitos de diferentes individuos de igual fenotipo al de la muestra discrepante.
- No se aceptará aquel producto que después de repetirse el ensayo no cumpla con los requerimientos de potencia con más de una muestra del total de fenotipos utilizados.

Título: Metodología para la producción de reactivos hemoclasificadores policlonales ABO	PNO: P-PS-02	
	Pág. 21 de 29	
	Revisión:01	
	Fecha: 12-06-06	
Aprobado por:	Sustitución	
Firma:	Página	Fecha

ANEXO D-1

3. Especificidad: Los hemoclasificadores del sistema ABO, cualquiera sea el método de ensayo, cumplirán con los siguientes requisitos:

- Reaccionarán con al menos 2+ de aglutinación con todas las muestras de eritrocitos que contengan el antígeno específico.
- No reaccionarán con los eritrocitos carentes del antígeno.
- No presentarán anticuerpos contra los antígenos de los grupos sanguíneos: H, I, Lea, Leb, K, k, Kpb, Js b P1, D, C, c, E, e, Cw, M, N, S, s, U, Lub, Jka Jkb, Fya, Fyb, Xga.
- No poseerán actividad hemolítica ni provocarán fenómeno Rouleaux.
- No aglutinarán a eritrocitos de grupo O con prueba de Coombs directa de 3+ a 4+ obtenidos de pacientes con anemia hemolítica autoinmune o preparados in-vitro.

4. Aidez: Se observarán aglutinados en un intervalo no mayor de 60 segundos. Los aglutinados no serán menores que 1 mm de diámetro a los 2 minutos, según inspección visual.

Título: Metodología para la producción de reactivos hemoclasificadores policlonales ABO	PNO: P-PS-02	
	Pág. 22 de 29	
	Revisión:01	
	Fecha: 12-06-06	
Aprobado por:	Sustitución	
Firma:	Página	Fecha

ANEXO E

Especificaciones de calidad de los hemoclasificadores policlonales.

1. El producto terminado cumplirá con los siguientes requisitos:

- Será transparente y libre de partículas.
- Contendrá preservativos antimicrobianos.
- Se envasará en frascos gotero de vidrio neutro transparente.
- El producto mantendrá la actividad biológica y las características físico-químicas durante el período de validez declarado, a la temperatura de conservación que recomienda el productor. Estará avalado por un estudio de estabilidad apropiado.

2 Colorantes de los diagnósticos.

- Los colorantes utilizados para los reactivos hemoclasificadores serán tales que:
- No afecten las características biológicas del producto.
- Mantengan la coloración del producto sin cambios significativos durante el período de validez del mismo.
- Permitan la observación del contenido y la detección de partículas o turbiedad en el producto durante el uso.

Título: Metodología para la producción de reactivos hemoclasificadores policlonales ABO	PNO: P-PS-02	
	Pág. 23 de 29	
	Revisión:01	
	Fecha: 12-06-06	
Aprobado por:	Sustitución	
Firma:	Página	Fecha

ANEXO E-1

3. Código de colores: Se utilizará el indicado en la tabla # 3.

Tabla 3. Código de colores requerido para los hemoclasificadores anti-A, anti-B y anti-AB.

Producto	Color del suero	Color de las etiquetas
Anti -A	Azul	Azul
Anti -B	Amarillo	Amarillo
Anti -AB	Rojo o no coloreado	Rojo

4. Rotulado: Las etiquetas en el envase primario y secundario del producto deben contener la siguiente información:

- Nombre del producto.
- Nombre del fabricante.
- Número de lote
- Fecha de producción.
- Fecha de expiración.
- Temperatura de almacenaje.
- Volumen.
- Origen del reactivo(humano o murino)
- Para prueba en tubo o en lámina
- Aplicación

Título: Metodología para la producción de reactivos	PNO: P-PS-02
--	--------------

hemoclasificadores policlonales ABO	Pág. 24 de 29	
	Revisión:01	
	Fecha: 12-06-06	
Aprobado por:	Sustitución	
Firma:	Página	Fecha

ANEXO F

Protocolo de liberación.

REGISTRO DE LIBERACION DE REACTIVOS HEMOCLASIFICADORES POLICLONALES

Nombre del producto:

Procedencia de la Materia Prima:

Número de HC de la Materia Prima:

Fecha de Extracción:

Volumen inicial:

Título inicial:

Fecha de inicio de la producción:

Materiales utilizados en la producción del lote:

MATERIALES DE PROCEDENCIA INDUSTRIAL		
Nombre	Lote	Fecha de vencimiento

Título: Metodología para la producción de reactivos	PNO: P-PS-02
--	--------------

hemoclasificadores policlonales ABO	Pág. 25 de 29	
	Revisión:01	
	Fecha: 12-06-06	
Aprobado por:	Sustitución	
Firma:	Página	Fecha

ANEXO F-1

Volumen final:

Fecha de envasado:

Total de frascos envasados:

Volumen por cada frasco:

Característica del frasco utilizado:

Número de frascos escogidos para control M.B y ensayo funcional:

Número de lote del hemoclasificador:

MATERIALES PRODUCIDOS EN EL BANCO DE SANGRE					
Nombre	Lote	Fecha de Producción	Fecha de vencimiento	Fecha y lote esterilización	Resultado del control M.B

Título: Metodología para la producción de reactivos hemoclasificadores policlonales ABO	PNO: P-PS-02	
	Pág. 26 de 29	
	Revisión:01	
	Fecha: 12-06-06	
Aprobado por:	Sustitución	
Firma:	Página	Fecha

ANEXO F-2

RESULTADO DE ENSAYO FUNCIONAL Y CONTROL M.B		
Nombre del ensayo	Fecha	Resultado

Nota: Los resultados de ensayo funcional y control M.B se anexan al registro.

Se utiliza la siguiente etiqueta:

Observaciones:

Confeccionado por: _____ Fecha: _____ Firma: _____

Revisado por: _____ Fecha: _____ Firma: _____

Liberado por: _____ Fecha: _____ Firma: _____

Cuño A.C

Título: Metodología para la producción de reactivos hemoclasificadores policlonales ABO	PNO: P-PS-02	
	Pág. 27 de 29	
	Revisión:01	
	Fecha: 12-06-06	
Aprobado por:	Sustitución	
Firma:	Página	Fecha

ANEXO F-3

Instrucciones para el llenado.

Nombre del producto: Se registrará el nombre del reactivo hemoclasificador que se produjo (anti-A, anti-B o anti-AB).

Procedencia de la Materia Prima: Se registrará si la materia prima fue obtenida en el Banco de Sangre de Cienfuegos o si procede de otro Banco, especificando el nombre del mismo.

Número de HC de la Materia Prima: Se registrará el número de la historia clínica de la materia prima según etiqueta de la bolsa y documentación de la misma.

Fecha de Extracción: Se registrará la fecha en que fue realizada la donación según etiqueta de la bolsa y documentación de la misma.

Volumen inicial: Se registrará el volumen inicial de la donación según etiqueta de la bolsa y documentación de la misma.

Título inicial: Se registrará el título del plasma que corresponde a la bolsa según registro de trazabilidad e informe de laboratorio.

Fecha de inicio de la producción: Se registrará la fecha en que se inicia la producción del reactivo.

Materiales de procedencia industrial: Se registrará en las casillas correspondientes, el nombre, el lote y la fecha de vencimiento del material utilizado.

Materiales producidos en el Banco de Sangre: Se registrará en las casillas correspondientes, nombre, lote, fecha de producción, fecha de vencimiento, lote de esterilización, y resultado de control microbiológico del material utilizado,

Volumen final: Se registrará el volumen total del reactivo antes del envasado final.

Título: Metodología para la producción de reactivos hemoclasificadores policlonales ABO	PNO: P-PS-02	
	Pág. 28 de 29	
	Revisión:01	
	Fecha: 12-06-06	
Aprobado por:	Sustitución	
Firma:	Página	Fecha

ANEXO F-4

Instrucciones para el llenado]

Fecha de envasado: Se registrará la fecha de envasado del producto final.

Total de frascos envasados: Se registrará el número del total de frascos envasados.

Volumen por cada frasco: Se registrará el volumen de cada frasco envasado.

Característica del frasco utilizado: Se registraran las características del envase utilizado (capacidad, color, material y otros).

Número de frascos escogidos para control M.B y ensayo funcional: Se registrará el número de frascos utilizados para control microbiológico y ensayo funcional

Número de lote del reactivo hemoclasificador: Se registrará correspondiente del reactivo hemoclasificador.

Resultado del ensayo funcional y control microbiológico: Se registrará el nombre del ensayo funcional, la fecha y el resultado del ensayo.

Observaciones: Se registrará cualquier incidencia ocurrida durante el proceso de producción.

Confeccionado por: Se registrará el nombre y apellidos de la persona que confecciona el protocolo de liberación, la fecha y la firma.

Revisado por: Se registrará el nombre y apellidos de la persona que revisa el protocolo de liberación, la fecha y la firma.

Liberado por: Se registrará el nombre y apellidos de la persona que revisa el protocolo de liberación, la fecha y la firma.

Título: Metodología para la producción de reactivos hemoclasificadores policlonales ABO	PNO: P-PS-02	
	Pág. 29 de 29	
	Revisión:01	
	Fecha: 12-06-06	
Aprobado por:	Sustitución	
Firma:	Página	Fecha

ANEXO G

Elaborado por: Lilian Torres González	Firma:	Fecha:
Cargo:		
Revisado por: Lic. Blanca Fernández Feroz.	Firma:	Fecha:
Cargo: Jefa del Área de Producción.		
Aprobado por: Everkys Mena Rodríguez	Firma:	Fecha:
Cargo: Especialista Principal de Aseg. de la Calidad		

Controles

Original: Dirección

Copia # 1: J' de Área de Producción

Copia # 2: Dpto. de Producción de Reactivos Hemoclasificadores

Copia # 3: Biblioteca

Período de revisión: 2 años

COPIA #

ESTE DOCUMENTO ES CONTROLADO
El mismo no puede ser copiado ni distribuido
 sin autorización de la Dirección