

PROYECTO DE RÓTULOS

Rótulos externos:

1 - Nombre del producto

A. Epiclone™ -2 Anti-D (IgM)

B. Epiclone^M -2 Anti-D (IgM/IgG)

Nota: Cada integrante de la familia en sus diferentes presentaciones se venden por separado

2 - Establecimiento importador y/o elaborador. Nombre del director Técnico, domicilio legal y en caso de productos importados totalmente terminados, acondicionados localmente o fraccionados deberá constar el origen de elaboración

Establecimiento importador:

Biocientífica S.A.
Iturri 232/4 Buenos Aires
Argentina - CP 1427
Teléfono: 4857-5005

Director Técnico:

Bioq.-Farm. Héctor Quiroz

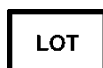
Elaborador:

Immulab Pty Ltd
77-97 Ricketts Road
Mount Waverley VIC 3149
Australia

3 - Leyenda “Autorizado por el M.S. y A.S.”:

Uso profesional exclusivo. Autorizado por la A.N.M.A.T. PM-78-XXX

4 - Número de lote o partida:



5 - Fecha de Vencimiento



6 - Constitución del equipo:



5 x 10 mL



250 x 10 mL

Dr. HÉCTOR M. QUIROZ
BIOQUÍMICO-Méd. 7.335
DIRECTOR TÉCNICO

BIOCIENTÍFICA S.A.
PEDRO SEDLINSKY
PRESIDENTE

7 - Conformación del equipo

- A. Epiclone™ -2 Anti-D (IgM)
5 viales x 10 mL.

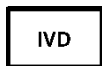
Epiclone™ -2 Anti-D (IgM)
250 viales x 10 mL.

- B. Epiclone™ -2 Anti-D (IgM/IgG)
5 viales x 10 mL.

Epiclone™ -2 Anti-D (IgM/IgG)
250 viales x 10 mL.

Dr. HECTOR M. QUIROZ
BIOQUÍMICO-Mat. 7.336
DIRECTOR TÉCNICO

8 - Leyenda “Uso Diagnóstico In-Vitro”



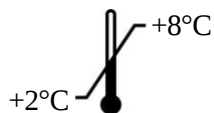
9 - Descripción de la finalidad de uso

Reactivo de agrupación monoclonal.

10 - Descripción de las precauciones



11 - Condiciones de conservación



BIOCIENTIFICA S.A.
PEDRO SEDLINSKY
PRESIDENTE

Rótulos internos:

Epiclone™ -2 Anti-D

Monoclonal Grouping Reagent.

(IgM)

LOT



IVD

+2°C  +8°C



10 mL

Immulab Pty Ltd VIC Australia


Dr. HECTOR M. QUIROZ
BIOQUÍMICO-Mat. 7.336
DIRECTOR TÉCNICO

Epiclone™ -2 Anti-D

Monoclonal Grouping Reagent.

Direct and Indirect tests

(IgM/IgG)

LOT



IVD

+2°C  +8°C



10 mL

Immulab Pty Ltd VIC Australia

BIOCIÉNTIFICA S.A.

PEDRO SEDLINSKY
PRESIDENTE

Proyecto de manual de instrucciones

A continuación se detallan los Manuales de Instrucción de los productos

A. Epiclone™ -2 Anti-D (IgM)

B. Epiclone^M -2 Anti-D (IgM/IgG)

Cada integrante de la familia en sus diferentes presentaciones se venden por separado


Dr. HECTOR M. QUIROZ
BIOQUIMICO-Mat. 7.335
DIRECTOR TECNICO

BIOCIENTIFICA S.A.

PEDRO SEDLINSKY
PRESIDENTE

1- Nombre comercial del producto:

Epiclone™ -2Anti-D (IgM/IgG)

2- Descripción de la finalidad de uso del producto

Uso previsto

Para detectar el antígeno del grupo sanguíneo RhD presentes en la superficie de los glóbulos rojos humanos.

Para métodos de aglutinación de placa, tubo, detección de D débil y microplaca.

3- Descripción del principio de acción o aplicación del producto

Antecedentes

En 1939, Levine y Stetson informaron el primer ejemplo del anticuerpo RhD. Fue descubierto durante una investigación de una mujer que recientemente había dado a luz a un bebé con Enfermedad hemolítica del feto y recién nacido (HDFN) y que había desarrollado una reacción hemolítica por la transfusión de glóbulos rojos de su esposo. Se demostró que este anticuerpo no pertenecía al sistema AB0 o MNS, los antígenos de grupos sanguíneo conocidos a la fecha.

En 1940, Landsteiner y Weiner inmunizaron conejos con glóbulos rojos de monos Rhesus, produciendo el anticuerpo, que aglutinaba el 85% de los glóbulos rojos ensayados. El anticuerpo fue llamado inicialmente anti-Rh y el correspondiente antígeno: factor Rh. También en 1940 Weiner y Peters encontraron un anticuerpo que tenía aparentemente idéntica especificidad que el anticuerpo anti-Rh en los sueros de pacientes que habían tenido reacciones a la transfusión después de recibir sangre compatible AB0. En 1942, Fisk y Foord mostraron que los anticuerpo anti-Rh de animales y humanos eran diferentes, pero llevó otros 20 años probar que estos anticuerpos no reaccionan con el mismo antígeno. Sin embargo el sistema de grupo de sangre Rh, para entonces ya había recibido su nombre. El anticuerpo de Landsteiner y Weiner es ahora conocido como Anti-LW y los anticuerpos encontrados por Weiner y Peters son de hecho factor anti D.

A mediados de la década de 1940 se reconocieron los antígenos C, E, c y e . Subsecuentes descubrimientos mostraron que el sistema Rh es el más complejo de la los sistemas de grupos sanguíneos humanos y consiste en más de 50 antígenos.

Características del antígeno

Los antígenos Rh están codificados por 2 genes altamente homólogos y relacionados en forma cerca en el brazo corto del cromosoma 1. El gen RHD produce el antígeno Rh y el gen RHCE produce los antígenos C, E, c y e. Los antígenos RhD, C, E, c y e se encuentran en proteínas hidrofóbicas, o glicosiladas constando de 417 aminoácidos que cubre la membrana de los glóbulos rojos 12 veces. Dentro de la membrana del glóbulo rojo, los polipéptidos Rh forman un complejo con una glicoproteína asociada a Rh (RhAG).

Los estudios muestran que estas proteínas Rh son parte de un gran complejo de membrana. Otra proteína de membrana parece requerir las proteínas Rh para su correcta expresión o presentación. Las glicoproteínas que llevan los antígenos LW, Duffy y U, todas parecen requerir la presencia de las proteínas Rh para su completa expresión.

El antígeno RhD o Rh1 es el más inmunogénico del sistema de antígenos Rh y es el más importante clínicamente. Es complejo y es variable, tanto en forma cuantitativa como cualitativa. Los glóbulos rojos humanos son clasificados como “RhD positivos” o “RhD


Dr. HECTOR M. QUIROZ
BIOQUÍMICO-Méd. 7.335
DIRECTOR TÉCNICO

BIOCIENTIFICA S.A.

PEDRO SEDLINSKY
PRESIDENTE

negativos”, dependiendo de la presencia o ausencia del antígeno Rh. Aproximadamente 85% de la población caucásica y entre 95-100% de la población asiática son Rh positivos. El número de antígenos RhD expresados en glóbulos rojos RhD positivos varía dependiendo del genotipo del paciente.

El antígeno RhD está presente en el nacimiento. Es resistente al tratamiento con ficina, papaína, tripsina, alfaquimiotripsina, pronasa y sialidasa. Las primeras tres de estas enzimas son utilizadas regularmente para aumentar la aglutinación de anticuerpos IgG de los que se sospecha tengan especificidad contra el sistema anti-Rh. El antígeno RhD también es resistente al tratamiento con DTT, clorquina y ácido.

Variantes del antígeno RhD

D débiles

Un pequeño porcentaje de personas darn una reacción más débil de lo normal con reactivos Anti-D policlonales y son clasificadas como “D débil”. La nomenclatura previa incluía el “D^u” o fenotipo “D^u”. Esta nomenclatura está derivada de la falta de confiabilidad en la detección de estos D débiles por reactivos policlonales y la necesidad de utilizar un método indirecto (IAT) para detectarlos. Los reactivos modernos monoclonales han cambiado el conocimiento práctico de la importancia de la nomenclatura. No hay una terminología estandarizada para las variaciones observadas, si bien las siguientes se utilizan comúnmente:

D débil- define todas las expresiones de RhD, ya sea cuantitativa (mayormente) o cualitativas (variantes)

Variante D- define todos los individuos RhD positivos que pueden elaborar anti-D. Este grupo fue observado como un subconjunto de los D débiles, pero ahora es detectado como claramente Rh D positivo o RhD negativo dependiendo de la especificidad del clon en el reactivo utilizado.

Es más simple y más práctico pensar a los D débiles como poseedores de dos causas distintas:

1.- D débiles cuantitativamente: El antígeno normal está expresado pero hay un número menor que el expresado en el fenotipo normal. El número de sitios D para los D cuantitativamente débiles por célula es entre 200-10000 probablemente. Con el uso de reactivos anti-D monoclonales modernos, estos pacientes ahora son vistos como un espectro de fuerzas de reacción en el ensayo. La confiabilidad de cualquier sistema para detectar estos glóbulos rojos D débiles depende de la sensibilidad del ensayo en uso.

2.- D débiles cualitativos: usualmente un número normal de antígenos con epitops genéticamente anormales. Hay por lo menos 14 de estos conocidos y nombrados variantes genéticos pero esta nomenclatura no está completa y la clasificación un sigue cambiando. La nomenclatura actual divide estas variantes en categorías y subcategorías basado en su reactividad serológica. Se considera que existen al menos 9 epitops que forman el antígeno RhD completo y se utiliza un panel de anticuerpos monoclonales para mapear y detectar cuál de estos epitops está presente en cada variante. Los nombres utilizados actualmente para las categorías o variantes incluye: D^{II}, D^{IIIa}, D^{IIIb}, D^{IVa}, D^{IVb}, D^{Va}, D^{Vb}, D^{VI} tipo 1, D^{VII}, D^{DBT}, D^{DFR}, D^{Har}. Las técnicas genéticas modernas a hora son usadas para detectar mejor y definir estas variantes.

Significado clínico

Es claro que algunas variantes D de glóbulos rojos son capaces de estimular la producción de anti-D si son transfundidos en receptores RhD negativos. Esto no es considerado un problema significativo clínicamente ya que la mayor parte de las variantes son claramente tipificadas como RhD positivas usando reactivos de alta calidad y seleccionados monoclonales anti-D. La Variante Categoría D^{VI} es de interés clínico en particular ya que tiene menores epitops (3 de cada 9) que otras categorías y carece del epitope D^{6/7}. Se cree que el epitope D^{6/7} es el más

Dr. HECTOR M. QUIROZ
BIOQUÍMICO-Méd. 7.336
DIRECTOR TÉCNICO

BIOCIENTIFICA S.A.
PEDRO SEDLINSKY
PRESIDENTE

inmunogénico de los epitopes RhD. La evidencia clínica muestra que las células de la variante Categoría D^{VI} son capaces de causar estimulación de anti-D en individuos RhD negativos, si bien esto es poco probable que ocurra frecuentemente. Los individuos de la variante Categoría D^{VI} son capaces de elaborar anti-D clínicamente relevantes cuando son expuestos a células normales RhD positivas. Por esta razón los dadores de sangre de la Variante Categoría D^{VI} deberían ser clasificados como RhD positivos. Los receptores de la Variante Categoría D^{VI} se comportan como un individuo RhD negativo y deberían ser tipificados como RhD negativos durante los ensayos antenatales y pre-transfusionales.

Tipificación de dadores RhD

El objetivo de la tipificación es clasificar como RhD positivo cualquier célula que sea capaz de estimular la elaboración de anti-D en receptores de sangre RhD negativos. Se considera generalmente deseable tipificar como RhD positivo tanto D débiles como la tecnología permita y todas las variantes D. Se considera generalmente necesario detectar la Variante Categoría D^{VI} en los análisis de sangre de dadores. Las células del cordón pueden ser pensadas como células de dadores y puede ser ensayadas con los mismos métodos

Tipificación de receptores de transfusión y tipificación antenatal

El objetivo de la tipificación de receptores potenciales de sangre y pacientes antenatales es determinar como RhD negativos cualquier paciente que sea capaz de elaborar anti-D en respuesta a una transfusión o hemorragia materno-fetal de células RhD positivas. Es generalmente considerado deseable tipificar como RhD positivo tanto D débiles como la tecnología permita y todas las variantes D excepto la Categoría D^{VI}. Dado que los receptores de Variante Categoría D^{VI} o las madres son capaces de elaborar anti-D, es importante que ellos también sean tipificados como RhD negativos

Características de los anticuerpos

Los anticuerpos alloanímicos anti-D son predominantemente de la clase de inmunoglobulina IgG, sin embargo algunos también contienen un componente IgM. Las más comunes de las subclases presentes son IgG1 e IgG3. Son usualmente elaboradas como resultado de la inmunización luego de una transfusión o embarazo. Los alloanticuerpos Anti-D reaccionan óptimamente a 37°C y son detectados por el método indirecto (IAT). Su reactividad se encuentra aumentada por técnicas enzimáticas. Solo raramente se unen a complemento debido a la distancia entre los sitios antigénicos RhD, evitando la unión del componente C1q del complemento a las moléculas de IgG. Anti-D alloanímico puede causar reacciones inmediatas o retardadas a la transfusión que fluctúan de leves a severas. Pueden también causar débil o severa HDFN.

Frecuencia de genes

El fenotipo Rh o genotipo probable de una muestra de sangre puede ser determinado ensayando glóbulos rojos contra cinco reactivos específicos para los alelos comunes de los loci D, C y E. La tabla inferior muestra las reacciones obtenidas con estos antisueros y resulta en el fenotipo, probable genotipo y frecuencia en la población de dadores de sangre de Australia. Debe ser mencionado que las frecuencias varían considerablemente en poblaciones africanas, afro-americanas, asiáticas y aborígenes australianos.

Dr. HERIBERTO M. QUIROZ
BIOQUÍMICO-Mat-2,336
DIRECTOR TÉCNICO

BIOCIENTIFICA S.A.
PEDRO SEDLINSKY
PRESIDENTE

Fenotipos y genotipos RhD comunes

	Reacción con Anti-D					Fenotipo	Probable genotipo	Símbolo corto	Sitios D por célula	Frecuencia aproximada en Australia (%)	Otros posibles genotipos
	D	C	E	c	e						
RhD Positivos	+	+	0	+	+	DCce	DCe/ce	R ₁ r	9900-14600	35.3	DCe/Dce Dce/Ce
	+	+	0	0	+	DCe	DCe/Dce	R ₁ R ₁	14500-19300	17.3	DCe/Ce
	+	+	+	+	+	DCEce	DCE/DcE	R ₁ R ₂	23000-31000	13.5	DCe/cE DcE/Ce DCE/ce DCE/Dce Dce/CE
	+	0	+	+	+	DEce	DCE/ce	R ₂ r	14000-16600	12.3	Dce/Dce Dce/cE
	+	0	+	+	0	DEc	DCE/ce	R ₂ R ₂	15800-33300	2.3	Dce/cE
	+	0	0	+	+	Dce	DCE/DcE	R ₀ r	12000-20000	1.7	Dce/Dce
	0	0	0	+	+	ce	ce/ce	rr	0	16.4	
RhD Negativos	0	+	0	+	+	Cce	Ce/ce	r'r	0	0.4	
	0	0	+	+	+	Ece	cE/ce	r'r	0	0.7	

Nota: Las células que dan una reacción positiva con Epiclone™ Anti-C pueden ser subsecuentemente subdivididas por ensayo con Epiclone™ anti-C^w. Se puede encontrar otros genotipos Rh pero tienen una frecuencia menor al 0.2%.

Aproximadamente el 85% de la población caucásica y entre 95-100% de la asiática y nativa americana son RhD positivos. En los aborígenes australianos el fenotipo CDE se encuentra frecuentemente excediendo el 50%, el fenotipo varía en frecuencia entre 5% a 44% y en promedio de frecuencia del fenotipo cDe es del 10% (pero el fenotipo cDe puede llegar hasta 43% en poblaciones africanas).

Principio del procedimiento

Cuando se utilizan con los métodos recomendados, estos reactivos provocarán la aglutinación de los glóbulos rojos que portan el antígeno RhD. La aglutinación de los glóbulos rojos por un reactivo específico indica la presencia del correspondiente antígeno en esas células, mientras que una reacción negativa significa la ausencia del correspondiente antígeno. Los glóbulos rojos que expresan el antígeno RhD aglutinarán en presencia del anticuerpo específico correspondiente en Epiclone™ -2 Anti-D (IgM/IgG)

4- Relación de todos los componentes provistos con el producto:

Reactivos

Descripción del reactivo

Los reactivos de tipificación sanguínea monoclonales Epiclone™ -2 Anti-D (IgM/IgG) son preparados a partir de anticuerpos monoclonales humanos IgM e IgG. Cuando son usados por métodos recomendados, estos reactivos acusarán la aglutinación de glóbulos rojos que expresen el antígeno RhD. El componente monoclonal IgM en este reactivo directamente aglutina glóbulos rojos RhD positivos y la mayor parte de los ejemplos de D débiles (excepto la variante RhD Categoría D^{VI}). El componente monoclonal IgG anti-D aglutinará la mayor parte de los fenotipos D débiles por el método indirecto de antiglobulina (IAT) y detecta todas las variantes conocidas de RhD. El reactivo contiene Albúmina bovina y azida sódica como conservante.

Dr. Hector M. Quiroz
BIOQUÍMICO-Mat. 7.335
DIRECTOR TÉCNICO

BIOCIENTIFICA S.A.
PEDRO SEDLINSKY
PRESIDENTE

Este reactivo ha sido optimizado para su uso sin requerir dilución o adiciones. Epiclone™ -2 Anti-D (IgM/IgG) contiene una mezcla del clon RUM-1 (IgM) y el clon MCAD6 (IgG).

5- Descripción de todos los materiales, accesorios, insumos o equipamientos, necesarios y no provistos para su uso con el producto:

NA

6- Instrucciones para su conservación:

Almacenamiento y condiciones de uso

Almacenar entre 2 ° y 8 ° C (refrigerar. No congelar).

7- Precauciones y advertencias sobre su uso.

Precauciones

1. Solo para uso diagnóstico
2. El material del que se deriva este producto fue encontrado no reactivo para marcadores específicos de HIV1 y 2, Hepatitis B y C, HTLV y Sífilis por métodos actualmente aprobados. Sin embargo, no existe método conocido que pueda asegurar que productos derivados de sangre humana no pudieran transmitir agentes infecciosos.
3. Contiene azida de sodio al 0.1% como conservante. Los productos que contienen azida sódica pueden reaccionar con ácidos u oxidantes. Nocivo si se ingiere. Puede ser nocivo si se inhala. Puede causar irritación de la piel y los ojos. No se conocen efectos crónicos sobre la salud.
4. Este producto debe ser claro; la turbidez puede indicar contaminación bacteriana. El reactivo no debe usarse si hay un precipitado o partículas presentes.
5. El material bovino utilizado procede de una fuente aprobada libre de encefalopatía espongiforme bovina (EEB).

8- Orientaciones sobre los cuidados con la muestra biológica objeto de diagnóstico

Recogida y preparación de muestras

Las muestras de sangre deben extraerse asépticamente con o sin la adición de anticoagulantes. Las pruebas deben realizarse lo antes posible después de la recolección de la muestra. Si el análisis de las muestras de sangre se retrasa, las muestras deben almacenarse entre 2 y 8 °C. Las muestras recolectadas en EDTA o heparina pueden analizarse hasta 7 días a partir de la fecha de extracción, siempre que el almacenamiento haya sido entre 2 y 8 °C. Las muestras coaguladas se pueden analizar hasta 14 días a partir de la fecha de extracción, siempre que el almacenamiento haya sido entre 2 y 8 °C.

Las muestras recolectadas en citrato pueden analizarse hasta 42 días a partir de la fecha de extracción, siempre que el almacenamiento haya sido entre 2 y 8 °C. Las células también se pueden almacenar en Celpresol™ entre 2 y 8 °C hasta por 42 días.


Dr. HECTOR M. QUIROZ
BIOQUÍMICO-Méd. 7.336
DIRECTOR TÉCNICO

BIOCIENTIFICA S.A.

PEDRO SEDLINSKY
PRESIDENTE

9- Descripción del proceso de medición:

Método de placa

1. Prepare una suspensión al 15-50% de glóbulos rojos de prueba en solución salina isotónica tamponada o no tamponada o Celpresol™.
2. Agregue 1 gota de reactivo de tipificación Epiclone™ -2 Anti-D (IgM/IgG) a una placa limpia de vidrio o plástico rotulada.
3. Agregue 1 gota de glóbulos rojos de prueba preparados.
4. Mezcle bien girando suavemente a temperatura ambiente durante 2 minutos.
5. Lea y registre los resultados.

Notas: La aglutinación de células RhD positivas usualmente comienza entre los 10 y 20 segundos. Cuando se obtienen reacciones débiles o dudosas, la placa puede ser incubada en una cámara húmeda por otros 15 minutos a temperatura ambiente. Lea y registre los resultados.

Si bien se usan comúnmente suspensiones de células del 15 al 50%, se obtienen reacciones más intensas utilizando sangre entera o suspendiendo los glóbulos rojos en suero autólogo del paciente o suero AB al 15-50%.

Método de tubo

1. Prepare una suspensión al 3-5% de glóbulos rojos de prueba en solución salina isotónica tamponada o no tamponada, o en Celpresol™.
2. Agregue 1 gota del reactivo Epiclone™ -2 Anti-D (IgM/IgG) a un tubo apropiado de vidrio limpio etiquetado.
3. Agregue 1 gota de glóbulos rojos a ensayar preparados.
4. Mezclar bien y centrifugar a baja velocidad (500 rcf) durante 60 segundos *.
5. Lea y registre los resultados.
6. Resultados aparentemente negativos que deban ser analizados para D débiles deben ser analizados utilizando el método IAT que se describe más abajo.

Notas: * O centrifugue a una velocidad y tiempo apropiados para la centrifugadora en uso.

Cuando se obtengan reacciones débiles o dudosas, los tubos pueden incubarse durante 15 minutos más a temperatura ambiente y repetir los pasos 4 y 5.

Para el análisis de dadores y sangre de cordón, la incubación a 37°C por 15 minutos detectará la mayor parte de la muestras cuantitativamente D débiles.

Método de tubo- Ensayo indirecto de antiglobulina (IAT)

1. Prepare una suspensión al 3-5% de glóbulos rojos de prueba en solución salina isotónica tamponada o no tamponada, o en Celpresol™.
2. Agregue 1 gota del reactivo Epiclone™ -2 Anti-D (IgM/IgG) a un tubo apropiado de vidrio limpio etiquetado (10x75mm o 12x75 mm)
3. Agregue 1 gota de glóbulos rojos a ensayar preparados.
4. Mezclar e incubar a 37°C por 15 minutos.
5. Lavar al menos 4 veces con solución buffer salina
6. Agregar 1 o 2 gotas de los reactivos Epiclone™ AHG Poly o Immulab AHG anti-IgG*
7. Mezclar bien y centrifugar a baja velocidad (500 rcf) durante 15-20 segundos **.
8. Agitar suavemente el tubo para desprender los glóbulos rojos y examinar por aglutinación. Leer y registrar los resultados
9. Agregar 1 gota de células control 3% de Immulab AHG a todos los tubos negativos para validar los resultados.
10. Repetir los pasos 7 y 8. Se el resultado continua siendo negativo, el test es inválido y debe ser repetido.

Dr. HEYTOR M. QUIROZ
BIOQUÍMICO-Méd. 7-335
DIRECTOR TÉCNICO

BIOCIENFÍCA S.A.
PEDRO SEDLINSKY
PRESIDENTE

Notas: * Los reactivos Epiclone™ AHG Poly e Immulab AHG anti-IgG han sido validados para métodos de 1 o 2 gotas. Los usuarios deben encontrar que el método de 2 gotas provee un volumen final mayor que facilita la lectura.

** O centrifugue a una velocidad y tiempo apropiados para la centrifugadora en uso.

Método de microplaca

Epiclone™-2 Anti-D (IgM/IgG) está validado para el siguiente método de microplaca (MTP); sin embargo, debido a la variación en los métodos y equipos, los usuarios de microplacas deben validar estos reactivos utilizando el método de MTP que elijan. Se utilizan usualmente las microplacas sólidas de fondo en "U".

1. Prepare una suspensión al 3-5% de glóbulos rojos de prueba en solución salina isotónica tamponada o no tamponada que contenga albúmina de suero bovino (BSA) al 1%.
2. Agregue 1 volumen de Epiclone™ -2 Anti-D (IgM/IgG) a los pocillos de prueba correspondientes.
3. Agregue un volumen igual de la suspensión de glóbulos rojos a ensayar a los pocillos de prueba apropiados.
4. Mezcle el contenido de cada pocillo usando medios manuales o un agitador de microplacas. El tiempo necesario para lograrlo dependerá de la velocidad y la órbita del agitador.
5. Centrifugue a baja velocidad (100 rcf) durante 40 segundos *.
6. Vuelva a suspender los glóbulos rojos con un agitador de microplacas para lograr un tiempo y una velocidad de agitación óptimos.
7. Leer las pruebas macroscópicamente o con un lector automático.

Nota: * O centrifugue a una velocidad y tiempo debidamente validados para la centrífuga en uso.

10- Orientaciones sobre los procedimientos de calibración del proceso de medición

NA

11- Descripción de los procedimientos de cálculos y obtención de los resultados de la medición:

Interpretación de los resultados

Los ensayos de aglutinación de glóbulos rojos con Epiclone™ -2Anti-D (IgM/IgG) constituyen un resultado positivo e indican la presencia del antígeno RhD en los glóbulos rojos. La ausencia de aglutinación con Epiclone™ -2Anti-D (IgM/IgG) indica la falta de la fuerza normal del antígeno RhD en el ensayo sobre glóbulos rojos. En estos casos, los pacientes pueden ser con seguridad clasificados como RhD negativos, pero los dadores deben ser luego ensayados con Epiclone™ -2Anti-D (IgM/IgG) por el método indirecto IAT para la presencia de D débiles para detectar las variantes Categoría D^{VI}. Un resultado negativo por los métodos directos, seguido de un resultado positivo con el método IAT indica un variante cuantitativa débil o una variante D^{VI}.

Dr. HERNAN M. QUIROZ
BIOQUÍMICO-Mat. 7.335
DIRECTOR TÉCNICO

BIOCIENTIFICA S.A.
PEDRO SEDLINSKY
PRESIDENTE

Producto	Cualitativo											Cuantitativo
	II	III ^a	III ^b	IV ^a	IV ^b	VI	VII	DFR	DBT	D ^{Har}	HMI	D débil
Epiclone™ -2Anti-D (IgM/IgG) Método Directo	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-,+/-,+
Epiclone™ -2Anti-D (IgM/IgG) Método Indirecto	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

12- Informaciones sobre las limitaciones del proceso de medición.

Limitaciones del procedimiento

Pueden producirse resultados falsos debido a:

1. Técnica incorrecta.
2. Presencia de rulos gruesos.
3. Uso de muestras de sangre envejecidas, reactivos o materiales complementarios.
4. Muestras de sangre, reactivos o materiales complementarios contaminados.
5. Glóbulos rojos que tienen una prueba de antiglobulina directa (DAT) positiva.
6. Otra desviación de los métodos de prueba recomendados.
7. Concentraciones incorrectas de glóbulos rojos o reactivos caducados.
8. Lectura incorrecta de resultados.
9. Glóbulos rojos coagulados intensamente con IgG anti-D pueden dar resultados falsos negativos.

13- Orientaciones sobre el control interno de calidad a ser adoptado por el usuario para el correcto desempeño del proceso de medición

Controles

Dado que Epiclone™ -2 Anti-D (IgM/IgG) contiene menos de 2% m/v de proteína, es poco probable que las células positivas en un ensayo directo de Antiglobulina (DAT) causen falsos positivos en un procedimiento de ensayo indirecto y no es generalmente requerido o recordando un control inerte. El posible que ocurra agregación espontánea de glóbulos rojo en pacientes sufriendo de Enfermedad de hemaglutinación fría (CHAD) o con anomalías de proteínas séricas. Un control inerte debe ser requerido para detectar esta agregación espontánea, se recomienda una solución 2% m/v de Albúmina bovina es solución salina.

La reactividad de los reactivos de tipificación de sangre deberá ser confirmada con células control de reactividad positiva y negativa conocida, por los procedimientos descriptos en el instructivo del producto. El uso de controles es esenciales para el desempeño de los ensayos de tipificación de sangre.

- Control Positivo: Se deben utilizar glóbulos rojos identificados por presentar una expresión más débil del antígeno RhD, como R_{1r} o R_{0r}
- Control Negativo: Se deben utilizar glóbulos rojos identificados como carentes de antígeno Rh.

Luego de la interpretación de cada ensayo IAT, se debe adicionar un volumen de células sensibilizadas (por ejemplo Immulab AHG Control Cells 3%) a todos los ensayos negativos y el contenido debe ser re-examinado para asegurar que ocurra la aglutinación. Este control está basado en el principio de que un ensayo verdaderamente negativo, el reactivo anti-globulina humana tendrá un remanente no consumido luego de la exposición a una suspensión de células particularmente lavadas y por lo tanto aglutinará el AHG Control Cells. Su uso previene contra

Dr. HEYOR M. QUIROZ
BIOQUÍMICO-Mat. 7.336
DIRECTOR TÉCNICO

BIOCIENTIFICA S.A.
PEDRO SEDLINSKY
PRESIDENTE

errores causados por una técnica imperfecta, pobre lavado y contra reactivos que reaccionan inadecuadamente.

14- Informaciones sobre los valores de referencia obtenidos en poblaciones sanas o valores demográficos, epidemiológicos, estadísticos, deseables, terapéuticos ó tóxicos.

NA

15- Descripción de las características de desempeño del producto

Resumen del método

	Placa	Tubo	Tubo IAT/ método indirecto	Microplaca
Métodos validados	Si	Si	Si	Si
Volumen de reactivo	1	1	1	1
Volumen celular	1	1	1	1
Concentración celular	15 – 50%	3 – 5%	3 – 5%	3 – 5%
Tiempo de incubación	2 minutos	Centrifugado inmediato	15 min	N/A
Temperatura	Temp. Ambiente	Temp. Ambiente	37°C	Temp. Ambiente
Centrifugación (velocidad/tiempo)	N/A	Baja durante 60 segundos	Baja durante 20 segundos	Baja durante 40 segundos
Otros	Se puede incubar las reacciones débiles en una cámara húmeda a temperatura ambiente durante 15 minutos.	Se puede incubar las reacciones débiles a temperatura ambiente durante 15 minutos	Validar los negativos con . Epiclone™ AHG Poly e Immulab AHG anti-IgG	

* Para la técnica de placa, se obtienen reacciones más fuertes suspendiendo las células en suero autólogo del paciente o suero AB.

16- Referencias bibliográficas

Bibliografía

1. Thompson KM, Melamed MD, Eagle K, Gorik BD, Gibson T, Hoburn AM, Hughes-Jones NC; Production of human monoclonal IgG and IgM antibodies with anti-D (Rhesus) specificity using heterohibridomas. Immunol 1986;58: 157-60.
2. Flegel WA, Wagner FF: Molecular biology of partial D and weak D: Implications for blood bank practice. Clin Lab 2002; 48: 53-9
3. Westhoff CM: The Rh blood group svstem in review: A new face for the next decade. Transfusion 2004; 44: 1663-73.
4. Issitt, PD. Applied Blood Group Serology. 3rd Ed. Montgomery Scientific. Miami, 1985.
5. Harmening DM. Modern Blood Banking and Transfusion Practices. 5th Ed. FA Davis Company. Philadelphia 2005 (or current edition).
6. Roback JD. American Association of Blood Banks Technical Manual. 17th Ed. Bethesda, Maryland 2011 (or current edition).
7. Green R, et al. Basic Blood Grouping Techniques and Procedures. 2nd Ed. Victorian Immunohaematology Discussion Group 1992.
8. Transfusion Science Standing Committee of the Australian and New Zealand Society of Blood Transfusion Ltd Guidelines for Transfusion and Immunohaematology Laboratory Practice, 1st edition 2016 (or current edition).

Dr. HECTOR M. QUIROZ
BIOQUÍMICO-Mat. 7.335
DIRECTOR TÉCNICO

BIOCIENTIFICA S.A.
PEDRO SEDLINSKY
PRESIDENTE

9. Daniels G. Human Blood Groups. 2nd Ed. Blackwell Science. Carlton, Victoria 2002 (or current edition).
10. Race R, Sanger A. Blood groups in man. 6th Ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications 1975.
11. Reid M, Lomas-Francis C. The Blood Group Antigen FactsBook. 2nd Ed. Academic Press. US 2004 (or current edition).
12. Mourant AE, Kopec AC, Domaniewski K. The Distribution of Human Blood Groups and Other Polymorphisms. Oxford University Press. London 1976.
13. United Kingdom National Blood Service. Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom, 7th Ed. 2005 (or current edition).

Dr. HECTOR M. QUIROZ
BIOQUÍMICO-Méd. 7-336
DIRECTOR TÉCNICO

17- Indicación al consumidor

	Consult instructions for use		In vitro diagnostic medical device		Catalogue number		Temperature limitation		Manufacturer
--	------------------------------	--	------------------------------------	--	------------------	--	------------------------	--	--------------

	WARNING: Health Hazard
--	----------------------------------

Elaborador:

Immulab Pty Ltd
77-97 Ricketts Road
Mount Waverley VIC 3149
Australia

BIOCIÉNTIFICA S.A.
PEDRO SEDLINSKY
PRESIDENTE

1- Nombre comercial del producto:

Epiclone™ -2Anti-D (IgM)

2- Descripción de la finalidad de uso del producto

Uso previsto

Para detectar el antígeno del grupo sanguíneo RhD presentes en la superficie de los glóbulos rojos humanos.

Para métodos de aglutinación de placa, tubo, detección de D débil y microplaca.

3- Descripción del principio de acción o aplicación del producto

Antecedentes

En 1939, Levine y Stetson informaron el primer ejemplo del anticuerpo RhD. Fue descubierto durante una investigación de una mujer que recientemente había dado a luz a un bebé con Enfermedad hemolítica del feto y recién nacido (HDFN) y que había desarrollado una reacción hemolítica por la transfusión de glóbulos rojos de su esposo. Se demostró que este anticuerpo no pertenecía al sistema AB0 o MNS, los antígenos de grupos sanguíneo conocidos a la fecha.

En 1940, Landsteiner y Weiner inmunizaron conejos con glóbulos rojos de monos Rhesus, produciendo el anticuerpo, que aglutinaba el 85% de los glóbulos rojos ensayados. El anticuerpo fue llamado inicialmente anti-Rh y el correspondiente antígeno: factor Rh. También en 1940 Weiner y Peters encontraron un anticuerpo que tenía aparentemente idéntica especificidad que el anticuerpo anti-Rh en los sueros de pacientes que habían tenido reacciones a la transfusión después de recibir sangre compatible AB0. En 1942, Fisk y Foord mostraron que los anticuerpo anti-Rh de animales y humanos eran diferentes, pero llevó otros 20 años probar que estos anticuerpos no reaccionan con el mismo antígeno. Sin embargo el sistema de grupo de sangre Rh, para entonces ya había recibido su nombre. El anticuerpo de Landsteiner y Weiner es ahora conocido como Anti-LW y los anticuerpos encontrados por Weiner y Peters son de hecho factor anti D.

A mediados de la década de 1940 se reconocieron los antígenos C, E, c y e . Subsecuentes descubrimientos mostraron que el sistema Rh es el más complejo de la los sistemas de grupos sanguíneos humanos y consiste en más de 50 antígenos.

Características del antígeno

Los antígenos Rh están codificados por 2 genes altamente homólogos y relacionados en forma cerca en el brazo corto del cromosoma 1. El gen RHD produce el antígeno Rh y el gen RHCE produce los antígenos C, E, c y e. Los antígenos RhD, C, E, c y e se encuentran en proteínas hidrofóbicas, o glicosiladas constando de 417 aminoácidos que cubre la membrana de los glóbulos rojos 12 veces. Dentro de la membrana del glóbulo rojo, los polipéptidos Rh forman un complejo con una glicoproteína asociada a Rh (RhAG).

Los estudios muestran que estas proteínas Rh son parte de un gran complejo de membrana. Otra proteína de membrana parece requerir las proteínas Rh para su correcta expresión o presentación. Las glicoproteínas que llevan los antígenos LW, Duffy y U, todas parecen requerir la presencia de las proteínas Rh para su completa expresión.

El antígeno RhD o Rh1 es el más inmunogénico del sistema de antígenos Rh y es el más importante clínicamente. Es complejo y es variable, tanto en forma cuantitativa como cualitativa. Los glóbulos rojos humanos son clasificados como “RhD positivos” o “RhD

Dr. HECTOR M. QUIROZ
BIOQUÍMICO-Mat. 7.336
DIRECTOR TÉCNICO

BIOCIENTIFICA S.A.
PEDRO SEDLINSKY
PRESIDENTE

negativos”, dependiendo de la presencia o ausencia del antígeno Rh. Aproximadamente 85% de la población caucásica y entre 95-100% de la población asiática son Rh positivos. El número de antígenos RhD expresados en glóbulos rojos RhD positivos varía dependiendo del genotipo del paciente.

El antígeno RhD está presente en el nacimiento. Es resistente al tratamiento con ficina, papaína, tripsina, alfaquimiotripsina, pronasa y sialidasa. Las primeras tres de estas enzimas son utilizadas regularmente para aumentar la aglutinación de anticuerpos IgG de los que se sospecha tengan especificidad contra el sistema anti-Rh. El antígeno RhD también es resistente al tratamiento con DTT, clorquina y ácido.

Variantes del antígeno RhD

D débiles

Un pequeño porcentaje de personas dan una reacción más débil de lo normal con reactivos Anti-D policlonales y son clasificadas como “D débil”. La nomenclatura previa incluía el “D^u” o fenotipo “D^u”. Esta nomenclatura está derivada de la falta de confiabilidad en la detección de estos D débiles por reactivos policlonales y la necesidad de utilizar un método indirecto (IAT) para detectarlos. Los reactivos modernos monoclonales han cambiado el conocimiento práctico de la importancia de la nomenclatura. No hay una terminología estandarizada para las variaciones observadas, si bien las siguientes se utilizan comúnmente:

D débil- define todas las expresiones de RhD, ya sea cuantitativa (mayormente) o cualitativas (variantes)

Variante D- define todos los individuos RhD positivos que pueden elaborar anti-D. Este grupo fue observado como un subconjunto de los D débiles, pero ahora es detectado como claramente Rh D positivo o RhD negativo dependiendo de la especificidad del clon en el reactivo utilizado.

Es más simple y más práctico pensar a los D débiles como poseedores de dos causas distintas:

- 1.- D débiles cuantitativamente: El antígeno normal está expresado pero hay un número menor que el expresado en el fenotipo normal. El número de sitios D para los D cuantitativamente débiles por célula es entre 200-10000 probablemente. Con el uso de reactivos anti-D monoclonales modernos, estos pacientes ahora son vistos como un espectro de fuerzas de reacción en el ensayo. La confiabilidad de cualquier sistema para detectar estos glóbulos rojos D débiles depende de la sensibilidad del ensayo en uso.
- 2.- D débiles cualitativos: usualmente un número normal de antígenos con epitops genéticamente anormales. Hay por lo menos 14 de estos conocidos y nombrados variantes genéticas pero esta nomenclatura no está completa y la clasificación un sigue cambiando. La nomenclatura actual divide estas variantes en categorías y subcategorías basado en su reactividad serológica. Se considera que existen al menos 9 epitops que forman el antígeno RhD completo y se utiliza un panel de anticuerpos monoclonales para mapear y detectar cuál de estos epitops está presente en cada variante. Los nombres utilizados actualmente para las categorías o variantes incluye: D^{II}, D^{IIIa}, D^{IIIb}, D^{IVa}, D^{IVb}, D^{Va}, D^{Vb}, D^{VI} tipo 1, D^{VII}, D^{DBT}, D^{DFR}, D^{Har}. Las técnicas genéticas modernas a hora son usadas para detectar mejor y definir estas variantes.

Significado clínico

Es claro que algunas variantes D de glóbulos rojos son capaces de estimular la producción de anti-D si son transfundidos en receptores RhD negativos. Esto no es considerado un problema significativo clínicamente ya que la mayor parte de las variantes son claramente tipificadas como RhD positivas usando reactivos de alta calidad y seleccionados monoclonales anti-D. La Variante Categoría D^{VI} es de interés clínico en particular ya que tiene menores epitops (3 de cada 9) que otras categorías y carece del epitope D^{6/7}. Se cree que el epitope D^{6/7} es el más

Dr. HECTOR M. QUIROZ
BIOQUÍMICO-Méd. 7.336
DIRECTOR TÉCNICO

BIOCIENTIFICA S.A.
PEDRO SEDLINSKY
PRESIDENTE

inmunogénico de los epitopes RhD. La evidencia clínica muestra que las células de la variante Categoría D^{VI} son capaces de causar estimulación de anti-D en individuos RhD negativos, si bien esto es poco probable que ocurra frecuentemente. Los individuos de la variante Categoría D^{VI} son capaces de elaborar anti-D clínicamente relevantes cuando son expuestos a células normales RhD positivas. Por esta razón los dadores de sangre de la Variante Categoría D^{VI} deberían ser clasificados como RhD positivos. Los receptores de la Variante Categoría D^{VI} se comportan como un individuo RhD negativo y deberían ser tipificados como RhD negativos durante los ensayos antenatales y pre-transfusionales.

Dr. HECTOR M. QUIROZ
BIOQUÍMICO-Mat. 7.335
DIRECTOR TÉCNICO

Tipificación de dadores RhD

El objetivo de la tipificación es clasificar como RhD positivo cualquier célula que sea capaz de estimular la elaboración de anti-D en receptores de sangre RhD negativos. Se considera generalmente deseable tipificar como RhD positivo tanto D débiles como la tecnología permita y todas las variantes D. Se considera generalmente necesario detectar la Variante Categoría D^{VI} en los análisis de sangre de dadores. Las células del cordón pueden ser pensadas como células de dadores y puede ser ensayadas con los mismos métodos

Tipificación de receptores de transfusión y tipificación antenatal

El objetivo de la tipificación de receptores potenciales de sangre y pacientes antenatales es determinar como RhD negativos cualquier paciente que sea capaz de elaborar anti-D en respuesta a una transfusión o hemorragia materno-fetal de células RhD positivas. Es generalmente considerado deseable tipificar como RhD positivo tanto D débiles como la tecnología permita y todas las variantes D excepto la Categoría D^{VI}. Dado que los receptores de Variante Categoría D^{VI} o las madres son capaces de elaborar anti-D, es importante que ellos también sean tipificados como RhD negativos

Características de los anticuerpos

Los anticuerpos alloanímicos anti-D son predominantemente de la clase de inmunoglobulina IgG, sin embargo algunos también contienen un componente IgM. Las más comunes de las subclases presentes son IgG1 e IgG3. Son usualmente elaboradas como resultado de la inmunización luego de una transfusión o embarazo. Los alloanticuerpos Anti-D reaccionan óptimamente a 37°C y son detectados por el método indirecto (IAT). Su reactividad se encuentra aumentada por técnicas enzimáticas. Solo raramente se unen a complemento debido a la distancia entre los sitios antigénicos RhD, evitando la unión del componente C1q del complemento a las moléculas de IgG. Anti-D alloanímico puede causar reacciones inmediatas o retardadas a la transfusión que fluctúan de leves a severas. Pueden también causar débil o severa HDFN.

Frecuencia de genes

El fenotipo Rh o genotipo probable de una muestra de sangre puede ser determinado ensayando glóbulos rojos contra cinco reactivos específicos para los alelos comunes de los loci D, C y E. La tabla inferior muestra las reacciones obtenidas con estos antisueros y resulta en el fenotipo, probable genotipo y frecuencia en la población de dadores de sangre de Australia. Debe ser mencionado que las frecuencias varían considerablemente en poblaciones africanas, afro-americanas, asiáticas y aborígenes australianos.

Fenotipos y genotipos RhD comunes

RhD Positivos	Reacción con Anti-D					Fenotipo	Probable genotipo	Símbolo corto	Sitios D por célula	Frecuencia aproximada en Australia (%)	Otros posibles genotipos
	D	C	E	c	e						
+	+	0	+	+	+	DCce	DCE/ce	R ₁ r	9900-14600	35.3	DCE/Dce Dce/Ce

BIOCIENTIFICA S.A.
PEDRO SEDLINSKY
PRESIDENTE

Dr. HECTOR M. QUIROZ
BIOQUÍMICO-Mat. 7.336
DIRECTOR TÉCNICO

	+	+	0	0	+	DCE	DCE/Dce	R ₁ R ₁	14500-19300	17.3	DCE/Ce
	+	+	+	+	+	DCEce	DCE/DcE	R ₁ R ₂	23000-31000	13.5	DCE/cE DcE/Ce DCE/ce DCE/Dce Dce/CE
	+	0	+	+	+	DEce	DCE/ce	R ₂ f	14000-16600	12.3	DcE/Dce Dce/cE
	+	0	+	+	0	DEc	DcE/ce	R ₂ R ₂	15800-33300	2.3	DcE/cE
	+	0	0	+	+	Dce	DcE/DcE	R ₀ f	12000-20000	1.7	Dce/Dce
RhD Negativos	0	0	0	+	+	ce	ce/ce	rr	0	16.4	
	0	+	0	+	+	Cce	Ce/ce	r'r	0	0.4	
	0	0	+	+	+	Ece	cE/ce	r'r	0	0.7	

Nota: Las células que dan una reacción positiva con Epiclone™ Anti-C pueden ser subsecuentemente subdivididas por ensayo con Epiclone™ anti-C^w. Se puede encontrar otros genotipos Rh pero tienen una frecuencia menor al 0.2%.

Aproximadamente el 85% de la población caucásica y entre 95-100% de la asiática y nativa americana son RhD positivos. En los aborígenes australianos el fenotipo CDE se encuentra frecuentemente excediendo el 50%, el fenotipo varía en frecuencia entre 5% a 44% y en promedio de frecuencia del fenotipo cDe es del 10% (pero el fenotipo cDe puede llegar hasta 43% en poblaciones africanas).

Principio del procedimiento

Cuando se utilizan con los métodos recomendados, estos reactivos provocarán la aglutinación de los glóbulos rojos que portan el antígeno RhD. La aglutinación de los glóbulos rojos por un reactivo específico indica la presencia del correspondiente antígeno en esas células, mientras que una reacción negativa significa la ausencia del correspondiente antígeno.

4- Relación de todos los componentes provistos con el producto:

Reactivos

Descripción del reactivo

Los reactivos de tipificación sanguínea monoclonales Epiclone™ -2 Anti-D (IgM) son preparados a partir de anticuerpos monoclonales humanos IgM. Cuando son usados por métodos recomendados, estos reactivos causaran la aglutinación de glóbulos rojos que expresen el antígeno RhD (excepto la variante RhD Categoría D^{VI}). Epiclone™ -2 Anti-D (IgM) está diseñado para su uso primario en receptores de sangre y ensayos antenatales. El reactivo contiene Albúmina bovina y azida sódica como conservante. Este reactivo ha sido optimizado para su uso sin requerir dilución o adiciones. El clon utilizado para elaborar Epiclone™ -2 Anti-D (IgM) es RUM-1 (IgM monoclonal).

5- Descripción de todos los materiales, accesorios, insumos o equipamientos, necesarios y no provistos para su uso con el producto:

NA

6- Instrucciones para su conservación:

Almacenamiento y condiciones de uso

Almacenar entre 2 ° y 8 ° C (refrigerar. No congelar).

BIOCIENTIFICA S.A.
PEDRO SEDLINSKY
PRESIDENTE

7- Precauciones y advertencias sobre su uso.

Precauciones

1. Solo para uso diagnóstico
2. El material del que se deriva este producto fue encontrado no reactivo para marcadores específicos de HIV1 y 2, Hepatitis B y C, HTLV y Sífilis por métodos actualmente aprobados. Sin embargo, no existe método conocido que pueda asegurar que productos derivados de sangre humana no pudieran transmitir agentes infecciosos.
3. Contiene azida de sodio al 0.1% como conservante. Los productos que contienen azida sódica pueden reaccionar con ácidos u oxidantes. Nocivo si se ingiere. Puede ser nocivo si se inhala. Puede causar irritación de la piel y los ojos. No se conocen efectos crónicos sobre la salud.
4. Este producto debe ser claro; la turbidez puede indicar contaminación bacteriana. El reactivo no debe usarse si hay un precipitado o partículas presentes.
5. El material bovino utilizado procede de una fuente aprobada libre de encefalopatía espongiforme bovina (EEB).


Dr. HECTOR M. QUIROZ
BIOQUÍMICO-Mat. 7.335
DIRECTOR TÉCNICO

8- Orientaciones sobre los cuidados con la muestra biológica objeto de diagnóstico

Recogida y preparación de muestras

Las muestras de sangre deben extraerse asépticamente con o sin la adición de anticoagulantes. Las pruebas deben realizarse lo antes posible después de la recolección de la muestra. Si el análisis de las muestras de sangre se retrasa, las muestras deben almacenarse entre 2 y 8 °C. Las muestras recolectadas en EDTA o heparina pueden analizarse hasta 7 días a partir de la fecha de extracción, siempre que el almacenamiento haya sido entre 2 y 8 °C. Las muestras coaguladas se pueden analizar hasta 14 días a partir de la fecha de extracción, siempre que el almacenamiento haya sido entre 2 y 8 °C.

Las muestras recolectadas en citrato pueden analizarse hasta 42 días a partir de la fecha de extracción, siempre que el almacenamiento haya sido entre 2 y 8 °C. Las células también se pueden almacenar en Celpresol™ entre 2 y 8 °C hasta por 42 días.

9- Descripción del proceso de medición:

Método de placa

1. Prepare una suspensión al 15-50% de glóbulos rojos de prueba en solución salina isotónica tamponada o no tamponada o Celpresol™.
2. Agregue 1 gota de reactivo de tipificación Epiclone™ -2 Anti-D a una placa limpia de vidrio o plástico rotulada.
3. Agregue 1 gota de glóbulos rojos de prueba preparados.
4. Mezcle bien girando suavemente a temperatura ambiente durante 2 minutos.
5. Lea y registre los resultados.

Notas: La aglutinación de células RhD positivas usualmente comienza entre los 10 y 20 segundos. Cuando se obtienen reacciones débiles o dudosas, la placa puede ser incubada en una cámara húmeda por otros 15 minutos a temperatura ambiente. Lea y registre los resultados.

BIOCIENTIFICA S.A.

PEDRO SEDLINSKY
PRESIDENTE

Si bien se usan comúnmente suspensiones de células del 15 al 50%, se obtienen reacciones más intensas utilizando sangre entera o suspendiendo los glóbulos rojos en suero autólogo del paciente o suero AB al 15-50%.

Método de tubo

1. Prepare una suspensión al 3-5% de glóbulos rojos de prueba en solución salina isotónica tamponada o no tamponada, o en Celpresol™.
2. Agregue 1 gota del reactivo Epiclone™ Anti-D-2 (IgM) a un tubo apropiado de vidrio limpio etiquetado.
3. Agregue 1 gota de glóbulos rojos a ensayar preparados.
4. Mezclar bien y centrifugar a baja velocidad (500 rcf) durante 60 segundos *.
5. Lea y registre los resultados.
6. Resultados aparentemente negativos que deban ser analizados para D débiles deben ser analizados utilizando el método IAT que se describe más abajo.

Notas: * O centrifugue a una velocidad y tiempo apropiados para la centrifugadora en uso.

Cuando se obtengan reacciones débiles o dudosas, los tubos pueden incubarse durante 15 minutos más a temperatura ambiente y repetir los pasos 4 y 5.

Para el análisis de dadores y sangre de cordón, la incubación a 37°C por 15 minutos detectará la mayor parte de las muestras cuantitativamente D débiles.

Método de tubo- Ensayo indirecto de antiglobulina (IAT)

1. Prepare una suspensión al 3-5% de glóbulos rojos de prueba en solución salina isotónica tamponada o no tamponada, o en Celpresol™.
2. Agregue 1 gota del reactivo Epiclone™ -2 Anti-D (IgM) a un tubo apropiado de vidrio limpio etiquetado (10x75mm o 12x75 mm)
3. Agregue 1 gota de glóbulos rojos a ensayar preparados.
4. Mezclar bien y centrifugar a baja velocidad (500 rcf) durante 60 segundos *.
5. Leer y registrar los resultados

Notas: * O centrifugue a una velocidad y tiempo apropiados para la centrifugadora en uso.

Cuando se obtienen reacciones débiles o dudosas, el tubo puede ser incubado otros 15 minutos a temperatura ambiente y repetir los pasos 4 y 5.

Para dadores o para análisis de sangre de cordón, la incubación por 15 minutos a 37°C detectará la mayor parte de los ejemplos de muestras cuantitativamente D débiles.

Método de microplaca

Epiclone™-2 Anti-D (IgM) está validado para el siguiente método de microplaca (MTP); sin embargo, debido a la variación en los métodos y equipos, los usuarios de microplacas deben validar estos reactivos utilizando el método de MTP que elijan. Se utilizan usualmente las microplacas sólidas de fondo en "U".

1. Prepare una suspensión al 3-5% de glóbulos rojos de prueba en solución salina isotónica tamponada o no tamponada que contenga albúmina de suero bovino (BSA) al 1%.
2. Agregue 1 volumen de Epiclone™ -2 Anti-D (IgM) a los pocillos de prueba correspondientes.
3. Agregue un volumen igual de la suspensión de glóbulos rojos a ensayar a los pocillos de prueba apropiados.
4. Mezcle el contenido de cada pocillo usando medios manuales o un agitador de microplacas. El tiempo necesario para lograrlo dependerá de la velocidad y la órbita del agitador.
5. Centrifugue a baja velocidad (100 rcf) durante 40 segundos *.
6. Vuelva a suspender los glóbulos rojos con un agitador de microplacas para lograr un tiempo y una velocidad de agitación óptimos.
7. Leer las pruebas macroscópicamente o con un lector automático.

Dr. HECTOR M. QUIROZ
BIOQUÍMICO-Mat. 7.335
DIRECTOR TÉCNICO

BIOCIENTIFICA S.A.
PEDRO SEDLINSKY
PRESIDENTE

Nota: * O centrifugue a una velocidad y tiempo debidamente validados para la centrífuga en uso.

10- Orientaciones sobre los procedimientos de calibración del proceso de medición

NA

11- Descripción de los procedimientos de cálculos y obtención de los resultados de la medición:

Interpretación de los resultados

Los ensayos de aglutinación de glóbulos rojos con Epiclone™ -2Anti-D (IgM) constituyen un resultado positivo e indican la presencia del antígeno RhD en los glóbulos rojos. La ausencia de aglutinación con Epiclone™ -2Anti-D (IgM) indica la falta de la fuerza normal del antígeno RhD en el ensayo sobre glóbulos rojos. En estos casos, los pacientes pueden ser con seguridad clasificados como RhD negativos, pero los dadores deben ser luego ensayados con un reactivo IgG anti-D (como por ejemplo Epiclone™ -2Anti-D (IgM(IgG) por el método indirecto IAT para la presencia de D débiles para detectar las variantes Categoría D^{VI}.

Producto	Cualitativo										
	II	III ^a	III ^b	IV ^a	IV ^b	VI	VII	DFR	DBT	D ^{Har}	HMI
Epiclone™ -2Anti-D (IgM)	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+

12- Informaciones sobre las limitaciones del proceso de medición.

Limitaciones del procedimiento

Pueden producirse resultados falsos debido a:

1. Técnica incorrecta.
2. Presencia de rulos gruesos.
3. Uso de muestras de sangre envejecidas, reactivos o materiales complementarios.
4. Muestras de sangre, reactivos o materiales complementarios contaminados.
5. Glóbulos rojos que tienen una prueba de antiglobulina directa (DAT) positiva.
6. Otra desviación de los métodos de prueba recomendados.
7. Concentraciones incorrectas de glóbulos rojos o reactivos caducados.
8. Lectura incorrecta de resultados.
9. Glóbulos rojos coagulados intensamente con IgG anti-D pueden dar resultados falsos negativos.

13- Orientaciones sobre el control interno de calidad a ser adoptado por el usuario para el correcto desempeño del proceso de medición

Controles

Dado que Epiclone™ -2 Anti-D (IgM) contiene menos de 2% m/v de proteína, es poco probable que las células positivas en un ensayo directo de Antiglobulina (DAT) causen falsos positivos en un procedimiento de ensayo indirecto y no es generalmente requerido o recordando un control inerte. El posible que ocurra agregación espontánea de glóbulos rojo en pacientes sufriendo de Enfermedad de hemaglutinación fría (CHAD) o con anormalidades de proteínas séricas. Un

Dr. HECTOR M. QUIROZ
BIOQUÍMICO-Méd. 7.336
DIRECTOR TÉCNICO

BIOCIENTIFICA S.A.
PEDRO SEDLINSKY
PRESIDENTE

control inerte debe ser requerido para detectar esta agregación espontánea, se recomienda una solución 2% m/v de Albúmina bovina es solución salina.

La reactividad de los reactivos de tipificación de sangre deberá ser confirmada con células control de reactividad positiva y negativa conocida, por los procedimientos descritos en el instructivo del producto. El uso de controles es esenciales para el desempeño de los ensayos de tipificación de sangre.

Control Positivo: Se deben utilizar glóbulos rojos identificados por presentar una expresión más débil del antígeno RhD, como R_{1r} o R_{0r}

Control Negativo: Se deben utilizar glóbulos rojos identificados como carentes de antígeno Rh.

14- Informaciones sobre los valores de referencia obtenidos en poblaciones sanas o valores demográficos, epidemiológicos, estadísticos, deseables, terapéuticos ó tóxicos.

NA

15- Descripción de las características de desempeño del producto

Resumen del método

	Placa	Tubo	Microplaca
Métodos validados	Si	Si	Si
Volumen de reactivo	1	1	1
Volumen celular	1	1	1
Concentración celular	15 – 50%	3 – 5%	3 – 5%
Tiempo de incubación	2 minutos	Centrifugado inmediato	N/A
Temperatura	Temp. Ambiente	Temp. Ambiente	Temp. Ambiente
Centrifugación (velocidad/tiempo)	N/A	Baja durante 60 segundos	Baja durante 40 segundos
Otros	Se puede incubar las reacciones débiles en una cámara húmeda a temperatura ambiente durante 15 minutos.	Se puede incubar las reacciones débiles a temperatura ambiente durante 15 minutos	

* Para la técnica de placa, se obtienen reacciones más fuertes suspendiendo las células en suero autólo del paciente o suero AB.

16- Referencias bibliográficas

Bibliografía

1. Thompson KM, Melamed MD, Eagle K, Gorik BD, Gibson T, Hoburn AM, Hughes-Jones NC; Production of human monoclonal IgG and IgM antibodies with anti-D (Rhesus) specificity using heterohibridomas. Immunol 1986;58: 157-60.
2. CaseJ: Albumin autoagglutinating phenomenon as a factor contributing to false positive reactions when typing with rapid slide test reagents. Vox Sang 1976; 30 441-4
3. Flegel WA, Wagner FF: Molecular biology of partial D and weak D: Implications for blood bank practice. Clin Lab 2002; 48: 53-9
4. Westhoff CM: The Rh blood group system in review: A new face for the next decade. Transfusion 2004; 44: 1663-73.
5. Issitt, PD. Applied Blood Group Serology. 3rd Ed. Montgomery Scientific. Miami, 1985.
6. Harmening DM. Modern Blood Banking and Transfusion Practices. 5th Ed. FA Davis Company. Philadelphia 2005 (or current edition).
7. Roback JD. American Association of Blood Banks Technical Manual. 17th Ed. Bethesda, Maryland 2011 (or current edition).

Dr. HECTOR M. QUIROZ
BIOQUÍMICO-Met-7.336
DIRECTOR TÉCNICO

BIOCIENTIFICA S.A.
PEDRO SEDLINSKY
PRESIDENTE

Dr. Hector M. QUIROZ
BIOQUIMICO-Med. 7.335
DIRECTOR TECNICO

8. Green R, et al. Basic Blood Grouping Techniques and Procedures. 2nd Ed. Victorian Immunohaematology Discussion Group 1992.
9. Transfusion Science Standing Committee of the Australian and New Zealand Society of Blood Transfusion Ltd Guidelines for Transfusion and Immunohaematology Laboratory Practice, 1st edition 2016 (or current edition).
10. Daniels G. Human Blood Groups. 2nd Ed. Blackwell Science. Carlton, Victoria 2002 (or current edition).
11. Race R, Sanger A. Blood groups in man. 6th Ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications 1975.
12. Reid M, Lomas-Francis C. The Blood Group Antigen FactsBook. 2nd Ed. Academic Press. US 2004 (or current edition).
13. Mourant AE, Kopec AC, Domaniewski K. The Distribution of Human Blood Groups and Other Polymorphisms. Oxford University Press. London 1976.
14. United Kingdom National Blood Service. Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom, 7th Ed. 2005 (or current edition).

17- Indicación al consumidor

	Consult instructions for use		In vitro diagnostic medical device		Catalogue number		Temperature limitation		Manufacturer
--	------------------------------	--	------------------------------------	--	------------------	--	------------------------	--	--------------

	WARNING: Health Hazard
--	----------------------------------

Elaborador:

Immulab Pty Ltd
77-97 Ricketts Road
Mount Waverley VIC 3149
Australia

BIOCIENTIFICA S.A.
PEDRO SEDLINSKY
PRESIDENTE



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
Año de la Grandeza Argentina

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número:

Referencia: Rótulo y manual de instrucciones - 69407

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 23 pagina/s.