



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTILÁN

Realización de un manual para la opción técnica de banco de sangre, perteneciente al Colegio de Ciencias y Humanidades.

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADO EN BIOQUÍMICA DIAGNÓSTICA

P R E S E N T A:
CRUZ ALEJANDRO OLIVER ALMARÁZ.

ASESORA:
M. en C. Gloria Leticia Arellano Martínez.

COASESORAS:
Q.B.P. María Antonieta Escalante Rojas.
M. en C. Paola Edith Briseño Lugo.

CUAUTILÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2018.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Realización de un manual para la opción técnica de banco de sangre, perteneciente al Colegio de Ciencias y Humanidades.

Que presenta el pasante: Cruz Alejandro Oliver Almaráz

Con número de cuenta: 309194008 para obtener el Título de la carrera: Licenciatura en Bioquímica Diagnóstica

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 14 de Septiembre de 2018.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Q.F.B. René Damián Santos	
VOCAL	M. en C. Gloria Leticia Arellano Martínez	
SECRETARIO	Q.F.B. María de Lourdes Galván Ruiz	
1er. SUPLENTE	M. en C. Heidi Johanna Amezcua Hempel	
2do. SUPLENTE	L.B.D. Gabriela Adriana Hernández Hernández	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

DEDICATORIAS.

*“Los fracasos son también útiles, porque, bien analizados, pueden conducir al éxito”
Alexander Fleming.*

La vida está llena de emociones que se pueden sentir como agua de rosas, pero las emociones también se pueden presentar como un pedazo de carne podrida. El punto en la vida consiste en poder diferenciar cuál será el sabor que más te gusta y será con el que te quedarás para toda la vida.

Quiero dedicarle este trabajo a mis padres, quienes fueron mi inspiración y mi apoyo para poder concluir mis estudios. Siempre dándome aliento para seguir adelante, algunas veces regañándome, pero siempre entendí que esa rudeza me sirvió en la vida para tener mi carácter y ser fuerte ante cualquier adversidad que se me presente en la vida. Los amo, son lo más importante que tengo en la vida y este esfuerzo es de ustedes también.

También todo este esfuerzo es de mi hermana, la cual siempre me ayudo con su experiencia en los estudios, ayudándome con matemáticas, que nunca fueron mi fuerte, y siempre dándome apoyo y cariño. Te amo cintita.

Quiero dedicarle este trabajo también a mi tía nena, que cuando iba en CCH, siempre me apoyo y me cuidó.

Quiero agradecerle a Iván Valencia, por todo su apoyo en la última etapa de mi carrera, gracias porque me ayudaste muchísimo a seguir adelante cuando ya no quería continuar. Siempre estarás en mi corazón.

Finalmente, y no menos importante, quiero agradecer a Dios, por darme esta vida tan hermosa que he tenido, no ha sido fácil, ha estado llena de conflictos, pero sé que todos esos problemas que me has puesto en la vida, han sido para ser mejor persona cada día, incluso las cosas peores y los atropellos que he sufrido y callado, me han ayudado a ser más consciente de mis actos y como dice Alexander

Fleming; mis fracasos me han conducido al éxito. Gracias por darme una familia hermosa y por dame amigos que me han dado experiencias que nunca olvidaré.

AGRADECIMIENTOS.

Quiero agradecer **INFINITAMENTE** a la profesora Tony, por darme esta oportunidad de este proyecto en el cual confío que tendrá mucho éxito para el beneficio de los alumnos. Gracias por soportarme, por tantos regañones que bien merecidos me los tenía. En este tiempo le he tomado mucho cariño y espero que usted también. Me ha enseñado muchas cosas no solo en la experiencia profesional, también en la vida diaria, dándome consejos para mi vida personal, he llegado a apreciar muchísimo su amistad, le doy gracias a Dios por haberla puesto en mi camino y espero que nuestra amistad crezca y perdure para siempre. Puede contar conmigo siempre que lo necesite. La quiero mucho pero ya no pegue... jja, ja, ja!

Quiero agradecer muchísimo por todos los momentos vividos a cada uno de mis amigos y la Dios por haberlos puesto en mi camino porque sin ellos, mi vida hubiera sido muy aburrida, todos ocupan un espacio especial en mi corazón, ¡sencillamente!

A Juan Flores por todas las ocurrencias que vivimos en el colegio y por su amistad de cara. Recuerdo mucho cuando nos conocimos que me caías mal porque eras bien llevado. Pero poco a poco te fuiste convirtiendo en un buen amigo, aunque luego nos peleáramos y cosas así, sabes que siempre puedes contar conmigo para lo que necesites y espero que siempre pueda contar con tu amistad. Gracias por haber formado parte de mi vida en el colegio, siempre con nuestras ocurrencias, diciendo puras tonterías, nunca voy olvidar todas nuestras aventuras y los espectáculos que hacíamos en la cafetería ja, ja, ja. Te quiero mucho boldo.

A Monse Mendoza por siempre estar conmigo en las clases, recuerdo cuando nos poníamos a estudiar o hacer los diagramas para los laboratorios, siempre fuiste una buena persona conmigo. Te quiero mucho amiwi. Sé que vas a lograr tus objetivos porque eres una mujer que puede lograr lo que quiera. La única vez que te vi súper mal fue en la fiesta de Allan, donde te desconocí completamente. Creo que aprendiste la lección porque jamás te vi mal. Ja, ja, ja.

A Diana Solís por todos los momentos que vivimos en la escuela, desde nuestro primer semestre, recuerdo que me dabas miedo antes por tus perfos, te veías como una chica ruda, pero poco a poco fui descubriendo lo maravillosa persona que eres. Sé que has pasado por momentos muy difíciles, pero me encanta tu energía y tu optimismo para salir adelante, eres muy inteligente y fuiste la primera en titularse del club. Recuerdo mucho cuando nos la pasábamos en mi casa "conviviendo sanamente" y una vez te planchamos el cabello y parecías la niña del aro ja, ja, ja. Me encantaba tronarte tu cabello siempre que te veía, es que te tenía mucho coraje, ja, ja, ja. Te quiero mucho hermosa.

A Clary Orozcos, ay manita, ¿ por dónde empezar? Fueron tantas cosas que hemos vivido. Muchas gracias por brindarme esta linda amistad que hemos tenido, por brindarme las puertas de tu casa para saludar a Mom's Edu. Me acuerdo cuando íbamos en orgánica con el tal Gustavo, fue la primera vez que hicimos equipo en una materia. Gracias por todo tu cariño y por siempre cuidarme cuando ya andaba bien mal en las fiestas ja, ja, ja. Espero que siempre sigas construyendo tu futuro y ya te cases porque quiero ser padrino de arrassssss. ¿No oyes?

A July Zagy, no manches amiga, me encantaba estar contigo en clases, siempre diciendo puras tonterías y hasta la fecha cuando nos vemos siempre seguimos diciendo puras elocuencias. Ja, ja, ja. Te quiero mucho amiga, me acuerdo muchísimo de la vez que fuimos a beber a la casa de Mich y que andabas toda blanca, ya casi desaparecías, te estabas haciendo la chica invisible. Ja, ja, ja.

A Sonia porque fue de las primeras amigas que conocí en esta facultad, siempre tan centrada. Te quiero mucho amiga, gracias por todos tus momentos conmigo. También a Sara por estar ahí como una amiga incondicional. Te quiero.

A Mich, por todas las ocurrencias que vivimos en la escuela. Eres una gran amiga y quiero que sepas que siempre contarás conmigo. Me acuerdo mucho la vez que nos íbamos a tu casa a convivir sanamente, pero terminábamos "irreconocibles".

A Alexis Hernández, porque pase muchos semestres contigo, éramos los más populares de la facultad y todos nos envidiaban, ja, ja, ja. Recuerdo mucho que antes me caías mal no sé por qué, pero después descubrí un gran amigo. El destino

tomo su jugada y nos tuvimos que separarnos en los semestres posteriores, pero quiero que sepas que siempre te recuerdo con muchísimo cariño.

A María Díaz, ay amor mío, ¿Qué te puedo decir, ¿qué te puedo contar? Era obvio que nuestra historia de amistad ocurrió de la peor manera. Cuando ambos nos odiábamos a muerte en la facultad. Pero por azares del destino, descubrimos que ese odio que nos teníamos era una mentira más. Porque nos convertimos en los mejores amigos, compartimos hasta la vivienda y siempre me apoyaste muchísimo en todas mis decisiones. Eres una gran, gran persona que vale su peso en oro. Te quiero muchísimo y quiero que nuestra amistad siempre siga adelante y que cuando te pida un consejo siempre estés ahí para mí, y yo para ti.

También a los nuevos amigos que he conocido en esta última etapa de mi vida. A Maxy por jugar siempre el juego en Facebook, a Neme Arista por ser la niña cupido, ja, ja, ja. Y a Saúl por compartir estas emociones en la última etapa de carrera.

Quiero agradecer con muchísimo cariño y respeto a todo el personal del Banco de Sangre del Hospital Infantil de México, Federico Gómez. Químicos, técnicos, biólogas, enfermeras, médicos y personal administrativo, por brindarme su apoyo y sus lecciones, pero sobre todo su aprendizaje que me han proporcionado todo este tiempo que he pasado con ustedes. Gracias

Quiero agradecer también a Miss Pao y a Miss Lety por ayudarme con este proyecto, por sus consejos y sus aportaciones. Gracias por ser tan buenas profesoras en sus clases. Aprendí mucho de ustedes. Les tengo mucho cariño.

Con mucho cariño recuerdo a mi profesora de secundaria. La profesora Ma. Luisa, ella fue la que enseñó amar a la química. Gracias a su perseverancia en la materia, hizo que me naciera el amor por la química. Felicidades por su vocación como profesor.

Quiero agradecer a la FES Cuautitlán porque en estos años que pasé en sus instalaciones me han forjado como un profesional, además de que sus profesores, aunque muchas veces eran muy estrictos, ahora entiendo que todo fue por mi bien y para crear profesionales que dejarán en alto a nuestra universidad.

ÍNDICE.

1. RESUMEN.....	i
2. INTRODUCCIÓN.....	iv
3. OBJETIVOS.....	vi
3.1 OBJETIVO GENERAL.....	vi
3.2 OBJETIVO PARTICULAR.....	vi
4. PORTADA DEL MANUAL	vii
- Vinculación del contenido teórico con las prácticas experimentales....	1
- Reglamento de seguridad en el laboratorio.....	2
- Práctica 1. Introducción al banco de sangre.....	3
- Práctica 2. Bioseguridad.....	11
- Práctica 3. Preparación de disoluciones porcentuales.....	17
- Práctica 4. Toma de muestra sanguínea.....	22
- Práctica 5. Citometría hemática.....	30
- Práctica 6. Prueba de la antiglobulina humana (Prueba de Coombs)..	48
- Práctica 7. Tipificación de grupos sanguíneos ABO y factor Rh.....	54
- Práctica 8. Prueba de confirmación de Rh negativo.....	63
- Práctica 9. Tipificación de subgrupos de A o prueba de la Lectina.....	68
- Práctica 10. Discrepancias en el sistema ABO.....	72

- Práctica 11. Signos vitales.....	78
- Práctica 12. Selección del donante.....	85
- Práctica 13. Determinación de enfermedades infecto-contagiosas en la sangre del donante.....	95
- Práctica 14. Elaboración de formatos de autoexclusión.....	110
- Práctica 15. Pruebas cruzadas.....	113
- Práctica 16. Rastreo de anticuerpos irregulares.....	120
- Práctica 17. Identificación de anticuerpos irregulares.....	127
- Práctica 18. Fraccionamiento sanguíneo.....	136
- Práctica 19. Protocolo de reacciones adversas a la transfusión.....	147
- Práctica 20. Control de calidad.....	155
- Práctica 21. Control de calidad de hemocomponentes.....	164
- Práctica 22. Control de calidad de antisueros hemoclasificadores.....	175
- Práctica 23. Control de calidad de equipos automatizados.....	189
5. CONCLUSIONES.....	201
6. REFERENCIAS.....	202

1. RESUMEN.

Desde la creación de la opción técnica de Banco de Sangre en el Colegio de Ciencias y Humanidades, se ha venido desarrollando como un programa de carácter optativo, que tienen como principal objetivo contribuir a la formación integral del alumno para que pueda desempeñar un ejercicio profesional de calidad como técnico especializado en el área de banco de sangre.

La creación de este manual de prácticas, surge a partir de la observación directa de las deficiencias que se tenían durante la implementación de las clases en el Colegio de Ciencias y Humanidades plantel Azcapotzalco, para la opción técnica de banco de sangre.

Durante el periodo semestral 2018-II, impartí cátedra en dicho plantel para la opción técnica de banco de sangre y, de esta manera, pude detectar que, al no contar con una referencia especializada, existían deficiencias durante los procesos de enseñanza-aprendizaje, lo que conllevaba a que el alumno no entendiera las bases teóricas y, por ende, perdía la capacidad de desarrollar habilidades prácticas.

El presente manual está dividido en 7 módulos, que se abordan durante dos semestres. Durante el primer semestre, se abordan los módulos: I) Servicio de banco de sangre; II) Inmunohematología aplicada al banco de sangre y III) El donante de sangre. En el segundo semestre, se abordan los módulos: IV) Pruebas pretransfusionales; V) La sangre sus componentes y hemoderivados; VI) Uso e indicaciones de la sangre de cada uno de sus componentes y hemoderivados y VII) Control de calidad en el banco de sangre, organizados de la siguiente forma:

Módulo I.

Practica No. 1. Introducción al banco de sangre.

Práctica No. 2. Bioseguridad.

Práctica No. 3. Preparación de disoluciones porcentuales.

Módulo II.

Práctica No. 4. Toma de muestra sanguínea.

Práctica No. 5. Flebotomía y aféresis.

Práctica No. 6. Citometría Hemática.

Práctica No. 7. Prueba de la antiglobulina humana (Prueba de Coombs).

Práctica No. 8. Tipificación de grupos sanguíneos ABO y factor Rh.

Práctica No. 9. Prueba de confirmación de Rh negativo.

Práctica No. 10. Tipificación de subgrupos de A o prueba de la Lectina.

Práctica No. 11. Discrepancias en el sistema ABO.

Módulo III.

Práctica No. 12. Signos vitales.

Práctica No. 13. Selección del donante.

Práctica No. 14. Determinación de enfermedades infecto-contagiosas en sangre del donante.

Práctica No. 15. Elaboración de formatos de autoexclusión del donante.

Módulo IV.

Práctica No. 16. Pruebas cruzadas.

Práctica No. 17. Rastreo de anticuerpos irregulares.

Práctica No. 18. Identificación de anticuerpos irregulares.

Módulo V.

Práctica No. 19. Fraccionamiento sanguíneo.

Módulo VI.

Práctica No. 20. Protocolo de reacciones adversas a la transfusión.

Módulo VII.

Práctica No. 21. Control de calidad.

Práctica No. 22. Control de calidad de hemocomponentes.

Práctica No. 23. Control de calidad de antisueros hemotipificadores.

Práctica No. 24. Control de calidad de equipos automatizados.

En cada una de las prácticas se incorpora un **título; introducción; objetivo; material, equipo y reactivos; contenido; resultados y manejo de residuos**. Algunas prácticas contienen una **actividad previa**, para complementar el aprendizaje.

Además, para poder obtener información actualizada, realicé una estancia de 6 meses en el Banco de Sangre del Hospital Infantil de México "Federico Gómez". En donde, adquirí experiencia y habilidades en cada una de las áreas del banco de sangre, para poder plasmarlas en este manual.

2. INTRODUCCIÓN.

Considerando la sangre como un tejido, los servicios de sangre son establecimientos autorizados que tiene como objetivo la recolección, procesamiento controlado, eficiente y oportuno de componentes sanguíneos inocuos. Sus funciones son la promoción de la donación voluntaria, reclutamiento y retención de donadores de sangre voluntarios; la extracción de unidades de sangre, separación en componentes sanguíneos; el estudio al 100% de las unidades recolectadas tanto inmunohematológicamente como para los marcadores serológico-infecciosos; el almacenamiento y su distribución para un abastecimiento oportuno de productos sanguíneos seguros a la red de los servicios de atención, en situaciones de urgencias relacionadas con accidentes, actos de violencia, cirugía mayor, enfermedades crónicas; trastornos de la coagulación, complicaciones del embarazo y parto, que requieren el uso de algún componente sanguíneo. Por esto, el contar con un abastecimiento oportuno de unidades de sangre para su procesamiento y de sus componentes sanguíneos para uso terapéutico en los establecimientos de las redes de atención médica, es un elemento necesario para prevenir la muerte o evitar complicaciones mayores en los pacientes con hemorragia severa (Centro Nacional de excelencia Tecnológica en Salud, 2006).

Las áreas del banco de sangre son varias, aunque a veces son desconocidas por los donadores, incluyen una zona de recepción y sala de espera; los consultorios médicos; toma de muestra sanguínea; área de sangrado o flebotomía; área de aféresis; inmunohematología; área de serología; pruebas de compatibilidad; y área control de calidad.

El término “medicina transfusional” tomó auge a fines del decenio de 1971-80. Su connotación la relaciona con las actividades medicas; sin embargo, la terapéutica con sangre es su relación directa. Ésta es un

proceso en el que intervienen sucesivamente el médico, la enfermera, el personal del banco de sangre y el de servicio de transfusiones. En consecuencia, la medicina transfusional es el resultado de las acciones eficientes de este equipo de trabajo (Rodríguez H, 2004).

La opción técnica de banco de sangre, impartida en el Colegio de Ciencias y Humanidades, tiene como objetivo formar a técnicos especializados, capaces de aplicar su conocimiento en la realización de extracción de sangre durante la predonación; analizar, fraccionar, conservar y proveer la sangre, así como sus hemoderivados. Todo esto, aplicando la normatividad vigente.

El presente proyecto contribuye a que el alumno sea el principal protagonista de la opción técnica y el docente no solo es un transmisor de conocimientos sino una guía, pues toda la metodología está plasmada en este manual, que el alumno tiene que consultar y utilizar como apoyo didáctico. La temática metodológica de este manual es involucrar al estudiante a ser más activo, capaz de captar por sí mismo el conocimiento, ser analítico y crítico, utilizando las investigaciones previas, los diagramas y esquemas contenidos en este manual, lo que lo lleva aprender a aprender, aprender a hacer y aprender a ser.

3. OBJETIVOS.

3.1 OBJETIVO GENERAL

Diseñar un manual de prácticas de la opción técnica de banco de sangre del Colegio de Ciencias y Humanidades con base en los avances tecnológicos en la disciplina, con la finalidad de mejorar la formación de técnicos competentes, en el área en cuestión, para que desarrollen un ejercicio profesional de alta calidad, regidos por la normatividad legal vigente.

3.2 OBJETIVO PARTICULAR.

Capacitar al técnico especializado en banco de sangre mediante la creación de este manual para que pueda aplicar las técnicas y los procedimientos vinculados al proceso de pre-donación, donación y post-donación; desde la extracción de sangre, su fraccionamiento, análisis, conservación y disposición de hemocomponentes, mediante una correcta aplicación de la normatividad legal-vigente en esta disciplina del área de la salud.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.
 COLEGIO DE CIENCIAS Y HUMANIDADES.
 DEPARTAMENTO DE OPCIONES TÉCNICAS.
 OPCIÓN TÉCNICA DE BANCO DE SANGRE.



MANUAL DE PRÁCTICAS DE LA OPCIÓN TÉCNICA DE BANCO DE SANGRE



ALUMNO:
 SEMESTRE:

GRUPO:

ELABORADO POR:
 L.B.D. Oliver Almaráz Cruz Alejandro.

COLABORADORES:
 Q.B.P. María Antonieta Escalante Rojas.
 M. en C. Gloria Leticia Arellano Martínez.
 M. en C. Paola Edith Briseño Lugo.
 Banco de Sangre del Hospital Infantil de México. Federico Gómez.



VINCULACIÓN DEL CONTENIDO TEÓRICO CON LAS PRACTICAS EXPERIMENTALES.

Número y nombre del módulo en el programa de la asignatura	Título de la practica	Número de la practica
MODULO I. Servicio de banco de sangre	Introducción al banco de sangre.	1
	Bioseguridad.	2
	Preparación de disoluciones porcentuales.	3
MODULO II. Inmunohematología aplicada al banco de sangre	Toma de muestra sanguínea.	4
	Citometría hemática	5
	Prueba de la antiglobulina humana (Prueba de Coombs).	6
	Tipificación de grupos sanguíneos ABO y factor Rh.	7
	Prueba de confirmación de Rh negativo.	8
	Tipificación de subgrupos A o prueba de la Lectina.	9
	Discrepancias en el sistema ABO	10
MODULO III. El disponente de sangre	Signos vitales.	11
	Selección del disponente.	12
	Determinación de enfermedades infecto-contagiosas en sangre del donante.	13
	Elaboración de formatos de autoexclusión.	14
MODULO IV. Pruebas pretransfusionales	Pruebas cruzadas.	15
	Rastreo de anticuerpos irregulares.	16
	Identificación de anticuerpos irregulares.	17
MODULO V. La sangre y hemoderivados	Fraccionamiento sanguíneo.	18
MODULO VI. Uso e indicaciones de cada uno de los componentes y hemoderivados sanguíneos	Protocolo de reacciones adversas a la transfusión.	19
MODULO VII. Control de calidad en el banco de sangre	Control de calidad.	20
	Control de calidad de hemocomponentes.	21
	Control de calidad de antiseros hemotipificadores.	22
	Control de calidad de equipos automatizados.	23





REGLAMENTO DE SEGURIDAD EN EL LABORATORIO DE BANCO DE SANGRE.

1. Queda prohibido tirar basura fuera del bote, ingerir alimentos y/o bebidas, fumar, recibir visitas por seguridad de las mismas, y hacer un mal uso de mobiliario del laboratorio.
2. Se debe mostrar una conducta adecuada dentro del laboratorio de Banco de sangre para evitar accidentes.
3. Las mochilas deberán ser colocadas en los espacios correspondientes durante cualquier práctica experimental, con la finalidad de mantener los pasillos libres sin obstáculos para la propia seguridad del alumnado.
4. Las puertas del laboratorio no deben de estar cerradas con llave.
5. Los residuos (RPBI) deben de colocarse en los contenedores destinados para ese fin, de acuerdo con el tratamiento de residuos que se señala en cada actividad práctica correspondiente. Nada deberá ser eliminado en la tarja sin previo tratamiento químico.
6. El ingreso al laboratorio solo se realizará cuando esté presente el profesor responsable.
7. Uso obligado la bata blanca de manga larga y limpia, cada vez que se vaya a realizar un trabajo experimental.
8. La tolerancia será de 10 minutos cuando haya sesiones experimentales.
9. Antes de empezar cualquier práctica, deberá limpiarse la mesa de trabajo.
10. Durante cada práctica experimental, que sea necesario el uso de tejido sanguíneo, éste deberá considerarse como un tejido potencialmente patógeno, por lo que deberá usarse guantes de látex o nitrilo.
11. Las mujeres durante cada práctica experimental deberán recogerse el cabello.
12. Por ningún motivo deberán inhalar o ingerir ningún producto químico.
13. Se deberán lavar las manos antes y después de cada práctica.
14. No usar tacones, se debe usar zapatos cerrados, por si se le llegara a derramar algún producto químico o reactivo no toque directamente a la persona.





Práctica No. 1

Introducción al banco de sangre.

INTRODUCCIÓN.

El banco de sangre funciona gracias a que todos los colaboradores como técnicos y profesionales de la salud, conocen la importancia para que la sangre sea segura y pueda ser utilizada por pacientes que así lo requieran. El proceso de donación es muy complejo porque no solo involucra al predisponente o donador, sino también al personal de salud que ahí labora.

En países desarrollados la donación altruista se hace de manera continua, aproximadamente de 4 a 6 donantes por cada 100 habitantes, mientras que en México es de solo 1 donante altruista por cada 100 habitantes. Mientras existan pacientes con cirugía de urgencia o de alta complejidad y pacientes con enfermedades hemorrágicas hereditarias, la donación de sangre será imprescindible. (Rodríguez H, 2014).

La regulación en el banco de sangre está regida por **normas oficiales mexicanas (NOM)**, que son de observancia obligatoria expedidas por las dependencias competentes y tienen como finalidad establecer las características que deben reunir los procesos o servicios cuando éstos puedan constituir un riesgo para la seguridad de las personas o dañar la salud humana y el medio ambiente (Ley Federal Sobre Metrología y Normalización).

En el caso del banco de sangre, existe una norma que regula toda su actividad: la **NOM-253-SSA1-2012**. Esta norma trata de la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos. Además, existen normas complementarias a ésta, es decir, que de cierta manera colaboran al buen funcionamiento y regulación del banco de sangre, como son: la **NOM-007-SSA3-2011**, que establece la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos; la **NOM-168-SSA1-1998**, que establece como debe ser el expediente clínico; y la **NOM-087-ECOL-SSA1-2002**, que establece la clasificación de los residuos peligrosos biológico-infecciosos.

Estas son las normas más importantes que veremos en cualquier banco de sangre y es de suma importancia que se conozcan para los futuros técnicos en cuestión. El uso en conjunto de estas normas contribuye al buen funcionamiento del banco de sangre y garantiza la máxima reducción de riesgos asociados al proceso de donación sanguínea, pues ratifica la calidad y seguridad de las unidades y componentes sanguíneos.

Podemos decir que los componentes y otros productos de la sangre están regulados como agentes farmacológicos. Los bancos de sangre y servicios de transfusión están regulados como laboratorios. Estas exigencias hacen que el cumplimiento sea complejo. Sin embargo, la regulación apoya la importancia que tienen los productos derivados de la sangre, debiendo ser efectivos y seguros a través de buenas prácticas de laboratorios y sistemas de gestión de calidad (Torres O, 2012).

OBJETIVO.

El alumno aprenderá, mediante una revisión normativa (Normas Oficiales Mexicanas) y manejo de equipo (como la centrífuga y el microscopio óptico) el buen funcionamiento y organización en el laboratorio de banco de sangre.

Realizar el lavado de material que se ocupará en el laboratorio de banco de sangre, para garantizar que la fase analítica del proceso se realizará en óptimas condiciones.





ACTIVIDAD PREVIA.

Consulte la **NOM-253-SSA1-2012**, específicamente los capítulos 4 y 5, y la **NOM-087-ECOL-SSA1-2002**, con la finalidad de contestar el cuestionario que se le solicitará en el apartado de resultados.

Investigue qué es la iluminación de Kohler para el microscopio óptico compuesto.

MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS.

MATERIAL.

Material de vidrio sucio.
Escobillones (por persona).
Guantes (por persona).
Servitoallas.
Microfibrillas para limpiar anteojos.
Palanganas.
Papel parafilm.
Laminillas teñidas previamente.

EQUIPO.

Centrífuga clínica.
Microscopio óptico.

REACTIVOS.

Jabón neutro grado técnico.
Hipoclorito de sodio al 5%
Aguda destilada.
Aceite de inmersión.

CONTENIDO.

1.1 REVISIÓN DE LAS NORMAS OFICIALES MEXICANAS.

NOM-253-SSA1-2012

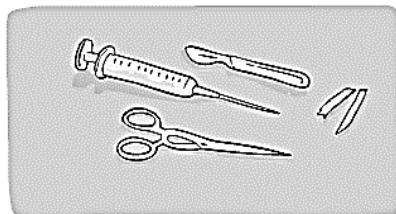
La Organización Mundial de la Salud y la Organización Panamericana de la Salud establecen que para abastecer de sangre a la población se debe fomentar el trabajo en equipo, obtener la sangre y componentes sanguíneos de 1) donantes altruistas, no remunerados y regulares (es decir, que van de manera consecutiva a donar) y 2) donación familiar, asegurándose que reciban una atención de calidad. Esta norma debe contribuir a la confianza general en cuanto a la donación de sangre y componentes sanguíneos, dando protección a la salud de los donantes, receptores y el personal de la salud, conseguir la autosuficiencia (dicho de otro modo, que el banco de sangre cuente con la cantidad suficiente de productos sanguíneos para abastecer al hospital), reforzar la seguridad de la cadena transfusional, y que pueda lograrse un mejor nivel de atención, adoptando las medidas necesarias para alcanzar los objetivos planeados.

NOM-087-ECOL-SSA1-2002

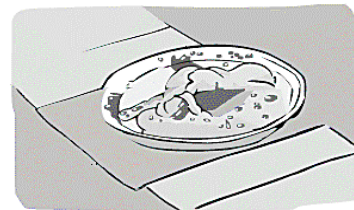
Los **residuos peligrosos** son definidos por la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección del Ambiente, como residuos que tienen características corrosivas, reactivas, explosivas, tóxicas, inflamables y biológico-infecciosos que son un peligro para el medio ambiente y la salud. Esta norma se encarga de la clasificación de los residuos peligrosos que son generados en unidades hospitalarias, laboratorios clínicos, unidades psiquiátricas, centros de tomas de muestras para análisis clínicos, bancos de sangre, bioterios y centros de investigación. Los diferentes tipos de Residuos Peligrosos Biológico Infecciosos (RPBI), pueden clasificarse en la siguiente imagen:



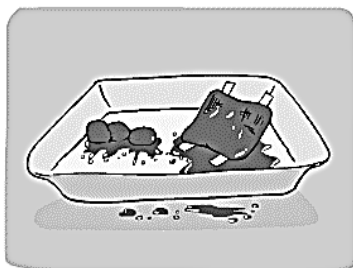
Objetos punzocortantes



Patológicos (Placentas, piezas anatómicas que no se encuentren en formol)



Residuos no anatómicos (gasas, torundas o campos saturados, empapadas o goteando líquidos corporales y secreciones de pacientes con tuberculosis o fiebres hemorrágicas).



Sangre líquida y sus derivados.

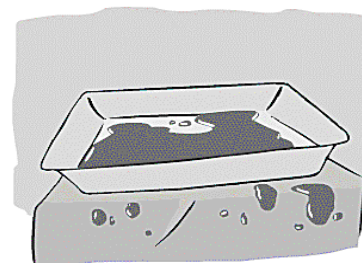


Imagen 1. Clasificación de los RPBI (Santos C, et al., 2003).

De igual modo, los RPBI los podemos clasificar con base a su envasado. Para esto, tenemos la siguiente tabla:

Tabla 1. Envasado de los RPBI (Santos C, et al., 2003).

Tipo de residuos	Estado físico	Envasado	Color
Sangre	Líquidos	Recipientes herméticos	Rojo
Cultivos y cepas de agentes infecciosos	Sólidos	Bolsas de polietileno	Rojo
Patológicos	Sólidos	Bolsas de polietileno	Amarillo
	Líquidos	Recipientes herméticos	Amarillo
Residuos no anatómicos	Sólidos	Bolsas de polietileno	Rojo
	Líquidos	Recipientes herméticos	Rojo
Objetos punzocortantes	Sólidos	Recipientes rígidos	Rojo

Actividad: una vez entendida la clasificación de los RPBI, conteste la tabla número 2 en el apartado de **resultados** de esta práctica.

1.2 UTILIZACIÓN DE LA CENTRÍFUGA.

Fundamento.

El principio de la centrífuga se basa en la separación de un soluto en suspensión (en nuestro caso, la muestra biológica es la sangre), a través de la rotación en un eje central, lo que genera una fuerza denominada: *centrifuga* (Gutiérrez G, et al., 2016). Así, por ejemplo, es capaz de separar el suero de una muestra de sangre coagulada, o el plasma en una muestra de sangre anticoagulada.



Imagen 2. Centrífuga. C.C.H. Azcapotzalco, U.N.A.M.

Técnica:

- I. Encender la centrífuga, la cual debe de estar sobre una superficie plana.
- II. Tapar con papel parafilm los tubos a centrifugar, retirando su tapón original.
- III. Con ayuda de la balanza granataria se debe equilibrar el peso del tubo con muestra sanguínea, para esto se toma un tubo vacío y se le va agregando agua, con ayuda de la pipeta hasta que se iguale el peso del tubo con muestra de sangre.
- IV. Una vez que se tienen los pesos equilibrados, colocar los tubos en las camisas del rotor, frente a frente para equilibrar los pesos en el soporte.
- V. Repetir los pasos II, III y IV para todas las muestras que se tengan que meter a centrifugar.
- VI. Programar la centrifuga, según sea el caso, que sea semiautomatizada o automatizada, a la velocidad y tiempo requerido.

1.3 UTILIZACIÓN DEL MICROSCOPIO ÓPTICO

Fundamento:

En el microscopio de luz, los objetos se visualizan debido al contraste entre los objetos, que absorben o dispersan la luz en diferentes grados, y el medio que los rodea (Santos C, et al. 2003).

Un microscopio consta de dos partes: la mecánica y la óptica. La parte mecánica es la estructura que sirve de base a la óptica. Consta de una columna, apoyada sobre un pie rectangular, que a veces puede tener forma de herradura. La columna sostiene un tubo cilíndrico y una plataforma o platina, cuadrada o redonda, que tiene en su centro un orificio de aproximadamente un centímetro de diámetro. La parte óptica está constituida por las lentes, que son: el ocular, ubicado donde el observador aproxima su ojo, y el objetivo, que es la lente que se acerca al objeto que se quiere observar (Gutiérrez G, et al. 2016).

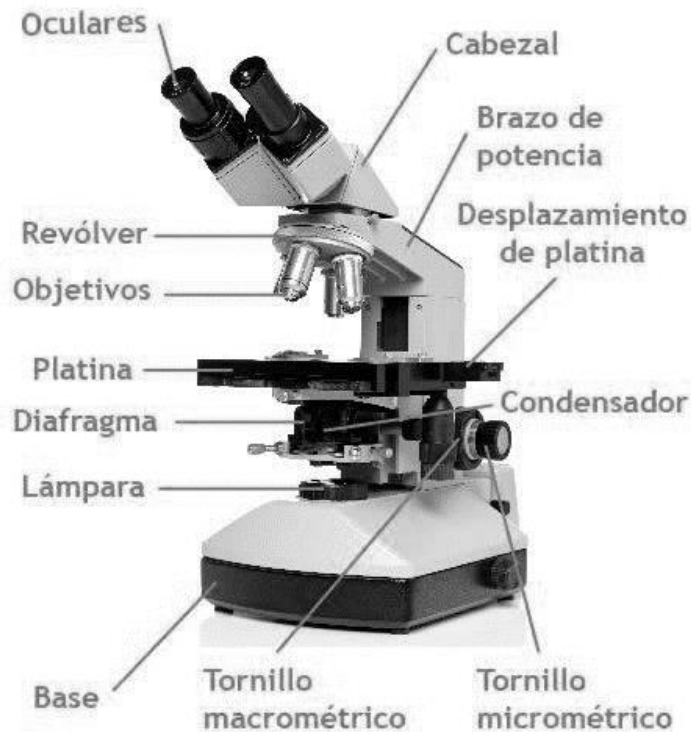


Imagen 3. Microscopio óptico. Extraído de: <https://bit.ly/2yEsYgn>.

Técnica:

- I. Bajar la platina hasta el tope inferior.
- II. Limpiar, con Microfibrillas para anteojos o con papel especial para objetivos o lentes, todas las superficies ópticas.
- III. Encender el microscopio. Cuidando que esté con el control de luz en el mínimo.
- IV. Colocar una laminilla que haya sido teñida y fijada.
- V. Seleccionar el objetivo de 10X.
- VI. Subir la platina usando el tornillo macrométrico hasta visualizar la muestra y luego enfocar con el tornillo micrométrico despacio hasta observar por los oculares la muestra nítidamente. Si es necesario, separar o juntar los oculares.
- VII. Ajustar la luz por medio del control de intensidad
- VIII. También se puede abrir el condensador para tener una mejor visibilidad.
- IX. Girar el revólver y posicionarlo en el objetivo de 40X.
- X. Para obtener mayor nitidez de la laminilla observada, mover muy despacio el tornillo micrométrico.
- XI. Girar el revólver y posicionarlo entre los objetivos de 40X y 100X.



- XII. Colocar sobre la laminilla una gota de aceite de inmersión para formar un “puente” entre el lente del objetivo y la preparación.
- XIII. Para obtener nitidez de la preparación, mover muy lentamente el micrométrico.
- XIV. Esta área que se está observando se denomina como “campo”. Para poder visualizar otro campo, mover el botón del desplazamiento y platina y observar diferentes campos de la laminilla.
- XV. Una vez observados los campos necesarios en la laminilla, bajar la platina.
- XVI. Retirar la laminilla y limpiar los lentes de los objetivos usando papel seda o microfibrilla para lentes. Además, después de utilizar aceite de inmersión, deberá limpiar el objetivo de inmersión con una torunda con alcohol isopropílico o etílico al 70% para evitar que el aceite se seque en el objetivo.

Actividad: Una vez terminada la experiencia, dibujar lo que observa en el objetivo de 10X, 40X y 100X, en la tabla número 3, en el apartado de **resultados** de esta práctica.

1.4 LAVADO DE MATERIAL.

Fundamento:

La limpieza del material de laboratorio es una tarea que debe de realizarse para que no haya interferencias en los resultados obtenidos de la actividad práctica en las pruebas realizadas en el banco de sangre. Aunque la mayoría del material que se ocupa, de preferencia, deberá ser desechable; los tubos de ensaye o las pipetas Pasteur, son materiales que deben de estar siempre limpios.

Para el lavado de material, existen diferentes técnicas, desde el uso de agua y jabón neutro, hasta técnicas más complicadas como uso de agentes limpiantes como ácido sulfúrico concentrado, sosa caustica, o soluciones de potasio. Todo dependerá del tipo de material y método que se va realizar en el laboratorio.

Procedimiento:

Para el lavado de material sucio de vidrio en el banco de sangre se utilizará jabón neutro y agua destilada.

- I. Para inactivar el material sucio, se debe preparar una solución de hipoclorito de sodio al 1% con agua corriente, en donde se sumergirá dicho material.
- II. Sumergir el material durante al menos 30 minutos.
- III. Enseguida, preparar una solución jabonosa con el detergente neutro concentrado, en donde se debe diluir el detergente de un 2% a un 15% en agua, como lo indica el fabricante.
- IV. Para ello, en una palangana agregar 100 mL del detergente neutro por cada litro de agua.
- V. Se ocupará un escobillón para lavar el material.
- VI. Se sumerge el escobillón en la solución de jabón.
- VII. Para lavar los tubos, se introduce el escobillón y se lava por la parte de adentro y también por la parte de afuera para eliminar algún tipo de marcaje.
- VIII. Para el caso de las pipetas Pasteur y pipetas volumétricas y/o analíticas, se sumergen, pues el escobillón no cabe en la misma.





- IX. Una vez que están enjabonados, se enjuagan al chorro de agua. Enjuagar al menos 5 veces.
- X. Posteriormente se enjuagan nuevamente, pero ahora con agua destilada.
- XI. Los tubos se dejan escurrir boca abajo en la gradilla de igual modo las pipetas.

RESULTADOS.

- De acuerdo con los criterios de la norma **NOM-253-SSA1-2012**, responda lo siguiente:
 1. ¿Pará qué le sirve al banco de sangre un programa de gestión de calidad?

 2. Mencione tres funciones del responsable sanitario.

 3. ¿Qué debe implementar el banco de sangre para mantener una fuente de donantes sanos y comprometidos con la donación altruista?

 4. Un banco de sangre, ¿Puede solicitar bolsas de sangre a otros bancos de sangre? Sí, no y por qué

 5. Mencione tres derechos que tiene cualquier donante, durante todo el proceso en el banco de sangre.

 6. Diga qué clase de refrigerio está obligado a dar el banco de sangre.





- Conforme a la clasificación de los RPBI, conteste la siguiente tabla:

Tabla 2. Clasificación de los RPBI más utilizados en el banco de sangre.

Nombre del residuo	RPBI o no RPBI	Tipo de envasado
Aguja de doble filo usada		
Capilares		
Tubo al vacío (vacutainer)		
Gasas empapadas de sangre		
Algodón con poca sangre		

- Con lo observado al microscopio óptico compuesto, dibuje lo visto en cada uno de los tres aumentos.

Tabla 3. Observación al microscopio.

	Aumento de 10X	Aumento de 40X	Aumento de 100X
Observación de la laminilla.			

BIBLIOGRAFÍA.

- Ávila I, et al., (2015). Manual de Prácticas de Laboratorio de Análisis Bioquímicos Clínicos Generales. México, Estado de México: Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, U.N.A.M.
- García V. (2004). Introducción a la microbiología. Costa Rica: Editorial Universidad Estatal a Distancia.
- Gavilán I, et al., (2006). Guía técnica de acción para residuos biológicos. México: Facultad de Química, U.N.A.M.
- Gutiérrez G, et al., (2016). Prácticas de bioquímica. Facultad de Odontología, U.N.A.M.
- NOM-253-SSA1-2012. Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos.
- Rodríguez H. (2014). El banco de sangre y la medicina transfusional. México: Médica Panamericana.
- Santos C, et al., (2003). Guía para el manejo de los residuos peligrosos biológico infecciosos en unidades de salud. México: Secretaría de Salud.
- Torres O. (2012). Manual técnico. Asociación americana de bancos de sangre.

MANEJO DE RESIDUOS.

Los remanentes de la solución de hipoclorito de sodio y de la solución jabonosa se desechan en la tarja.





Práctica No. 2 Bioseguridad.

INTRODUCCIÓN.

La bioseguridad es un punto crucial para el profesional que labora en cualquier banco de sangre, pues está en constante exposición a componentes sanguíneos que pueden contener agentes infecciosos. Todo el personal debe conocer a la perfección los puntos críticos en donde puedan existir posibles riesgos de contagio para así poder evitarlos. En caso de que ocurra un posible contacto, el personal debe saber cuáles son las medidas preventivas y correctivas.

Muchas veces la bioseguridad es pasada por alto, no solo en el banco de sangre, también en el laboratorio clínico, ya sea por desconocimiento del personal que ahí labora acerca de los peligros a los que pueden exponerse sino toma las medidas preventivas, o simplemente porque el personal no se lava de manera correcta las manos o tiene la absurda idea de "a mí no me va a pasar nada".

Los programas de bioseguridad en los bancos de sangre y en los servicios de transfusión sanguínea tienen los propósitos de disminuir el riesgo institucional de exposición ocupacional a agentes potencialmente peligrosos o dañinos y de reducir la contaminación ambiental producto del funcionamiento del servicio (Dueñas H, 2003).

La organización mundial de la salud (OMS), preocupada por la bioseguridad en cualquier laboratorio, creó un manual en 1983, donde expuso el equipamiento que deben tener los laboratorios de acuerdo con su nivel de trabajo. En la tercera edición de este manual, expone de la siguiente manera:

Durante los más de 30 años transcurridos desde su primera publicación en 1983, el Manual de bioseguridad en el laboratorio ha proporcionado orientación práctica sobre las técnicas de bioseguridad a todos los laboratorios de todos los niveles (OMS, 2005).

El uso del correcto lavado de manos permite eliminar a los gérmenes que se pueden llegar a transmitir de un individuo a otro por el simple hecho de hacer un incorrecto lavado de las manos. Ciertos grupos de profesionales de la salud, como las enfermeras, que están en mayor contacto con pacientes, tienen este compromiso de limpieza más alto, aunque esta responsabilidad no excluye a otro tipo de personal como químicos, médicos o técnicos.

OBJETIVO.

El alumno realizará una revisión de los niveles de bioseguridad en el laboratorio y comprenderá la técnica correcta de lavado de manos mediante esquemas para asegurar el bienestar y seguridad del personal que labora en el banco de sangre.

ACTIVIDADES PREVIAS A LA PRÁCTICA.

1. Deberás investigar, de acuerdo con la OMS, ¿Qué es la bioseguridad?, revisar el lavado y desinfección de manos correcto.
2. ¿Qué es un desinfectante?
3. Menciona 3 tipos de desinfectantes comúnmente utilizados.



4. Menciona cual es la diferencia entre desinfección y esterilización.

MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS.

MATERIAL.

Jabón líquido.
Servitoallas.
Gel antibacterial.

CONTENIDO.

2.1 CLASIFICACION DE LOS LABORATORIOS.

Los laboratorios, según la Organización Mundial de la Salud se clasificación en:

- **Laboratorio básico** (que tiene un nivel de bioseguridad 1).

En este tipo de laboratorios son casi siempre de escuelas, donde existe una enseñanza e investigación básicas. Normalmente se utiliza bata como equipo de seguridad y en él se trabajan materiales y agentes con bajo o nulo riesgo para la salud individual, comunitaria y para el medio ambiente.

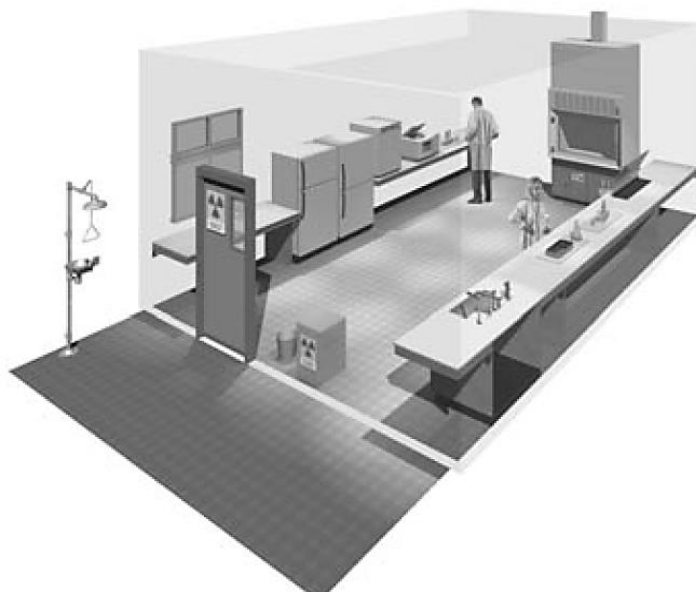


Imagen 4. Laboratorio típico de bioseguridad 1. (OMS, 2005).

- **Laboratorio básico** (que tiene un nivel de bioseguridad 2).

En estos laboratorios existen servicios de atención primaria, se hace un poco de diagnóstico e investigación. En estos sitios se utilizan señalamientos de riesgo biológico y se usa ropa protectora. Se trabaja con materiales y muestras que pueden causar enfermedad en humanos o animales, pero se conoce su tratamiento, existe vacuna o el riesgo de contagio es limitado. Es importante recalcar que un banco de sangre se encuentra clasificado como un laboratorio de nivel de bioseguridad 2.

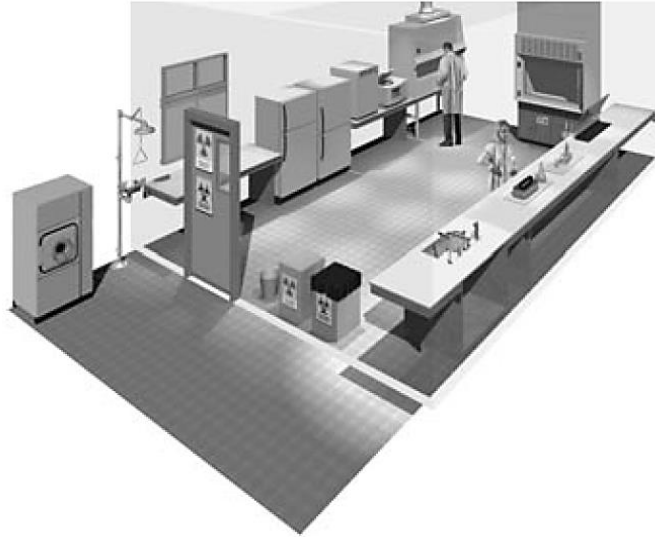


Imagen 5. Laboratorio típico de bioseguridad 2. (OMS, 2005).

- **Laboratorio de contención** (que tiene un nivel de bioseguridad 3).

En este apartado, en los laboratorios se hace diagnóstico especial e investigación. Se utilizan campanas de seguridad biológica y otros equipos de contención primaria, además se usa ropa especial y hay un acceso controlado con flujo de aire pues en ellos se trabaja con agentes que son de riesgo elevado para la salud del personal, la comunidad y el medio ambiente. Normalmente no existe un tratamiento eficaz o vacunas.

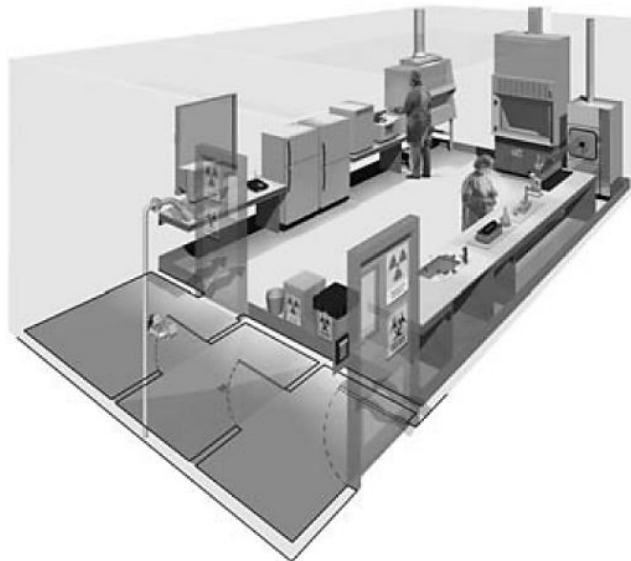


Imagen 6. Laboratorio típico de bioseguridad 3. (OMS, 2005).

- **Laboratorio de contención máxima** (que tiene un nivel de bioseguridad 4).

En este laboratorio se encuentran patógenos que son altamente peligrosos, la entrada al laboratorio es controlada con cámaras de aire de cierre hermético, en la salida hay ducha y se hace eliminación de residuos. Los equipos de seguridad son lo más nuevos en tecnología. Se utilizan trajes especiales y aire filtrado.



Se localizan en sitios lejanos de ciudades y bien aislados, ya que en ellos se trabaja con agentes de muy alto riesgo o desconocidos, que se diseminan fácilmente, por lo que difícilmente se tienen tratamientos o vacunas para ellos.

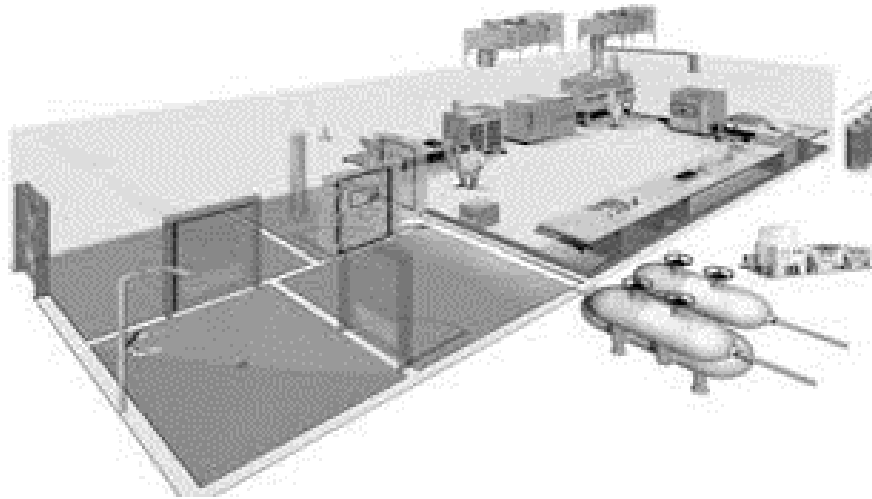


Imagen 7. Laboratorio nivel de bioseguridad 4. Extraído de: <https://goo.gl/QKTTUR>.

Actividad: escriba en la tabla número 4 del apartado de **resultados**, tres medidas de bioseguridad en el banco de sangre.

2.2 LAVADO Y DESINFECCIÓN DE MANOS.

El lavado de manos es parte fundamental no solo de cualquier banco de sangre, sino también a nivel Institucional en todos los centros de salud del país y del mundo. La Organización Mundial de la Salud ha desarrollado un conjunto de pasos a seguir para el correcto lavado de manos y además también para su desinfección.

La desinfección la podemos considerar como la eliminación parcial principalmente de microorganismos patógenos (gérmenes), no se compara con la esterilización que garantiza la ausencia de los microorganismos. Los microorganismos pueden ser: bacterias, hongos, virus o parásitos que llegan a causar daño, por eso es importante eliminarlos cuando se lleve a cabo cualquier práctica profesional o al entrar en contacto con cualquier paciente.

Para el caso del lavado de manos se deben emplear jabones líquidos, no se deben emplear jabones de barra pues en ellos quedan remanentes de microorganismos y al momento de lavar las manos solo se diseminan y no se eliminan.

Durante el lavado de manos eliminamos microorganismos que pueden ser infecciosos para nosotros y que a su vez podemos transmitir a cualquier paciente, pero con la desinfección aseguramos un poco más que nuestras manos se encuentran libres de patógenos o microorganismos que causan daño. Para el proceso de desinfección se utiliza gel antibacterial que contiene alcohol isopropílico o etílico al 70%.

En las siguientes imágenes se observa la recomendación global que hace la Organización Mundial de la Salud para el lavado y desinfección de manos correctamente. Con ayuda del profesor realizar ambas metodologías.



¿Cómo lavarse las manos? ¿Cómo desinfectarse las manos?

⌚ Duración de todo el procedimiento: 40-60 segundos

0 Mójese las manos con agua;

1 Deposite en la palma de la mano una cantidad de jabón suficiente para cubrir todas las superficies de las manos;

2 Frótese las palmas de las manos entre sí;

3 Frótese la palma de la mano derecha contra el dorso de la mano izquierda entrelazando los dedos y viceversa;

4 Frótese las palmas de las manos entre sí, con los dedos entrelazados;

5 Frótese el dorso de los dedos de una mano con la palma de la mano opuesta, agarrándose los dedos;

6 Frótese con un movimiento de rotación el pulgar izquierdo, atrapándolo con la palma de la mano derecha y viceversa;

7 Frótese la punta de los dedos de la mano derecha contra la palma de la mano izquierda, haciendo un movimiento de rotación y viceversa;

8 Enjuáguese las manos con agua;

9 Séquese con una toalla desechable;

10 Sirvase de la toalla para cerrar el grifo;

11 Sus manos son seguras.

⌚ Duración de todo el procedimiento: 20-30 segundos

1a Deposite en la palma de la mano una dosis de producto suficiente para cubrir todas las superficies;

1b

2 Frótese las palmas de las manos entre sí;

3 Frótese la palma de la mano derecha contra el dorso de la mano izquierda entrelazando los dedos y viceversa;

4 Frótese las palmas de las manos entre sí, con los dedos entrelazados;

5 Frótese el dorso de los dedos de una mano con la palma de la mano opuesta, agarrándose los dedos;

6 Frótese con un movimiento de rotación el pulgar izquierdo, atrapándolo con la palma de la mano derecha y viceversa;

7 Frótese la punta de los dedos de la mano derecha contra la palma de la mano izquierda, haciendo un movimiento de rotación y viceversa;

8 Una vez secas, sus manos son seguras.

Imagen 8. Lavado y desinfección de manos. (OMS, 2005).

Actividad: escriba en la tabla número 5 del apartado de **resultados**, la importancia de este procedimiento en el banco de sangre.

RESULTADOS.

Tabla 4. Medidas de bioseguridad.

MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD QUE APLICA EN EL BANCO DE SANGRE	
1.	
2.	
3.	



Tabla 5. Lavado y desinfección de manos.

RELATE BREVEMENTE CUÁL ES LA IMPORTANCIA DEL LAVADO DE MANOS Y DESINFECCION DE MANOS EN EL BANCO DE SANGRE.

BIBLIOGRAFÍA.

- Dueñas H. (2003). El banco de sangre. Cali, Colombia: Universidad del Valle
- Organización Mundial de la Salud. (2005). Manual de Bioseguridad en el Laboratorio. Ginebra: Suiza.

MANEJO DE RESIDUOS.

Papel, servitoallas, torundas con poca sangre o con alcohol (ambos no empapados), guantes, cubrebocas, plástico.

Desechar en la basura municipal.





Práctica No. 3

Preparación de disoluciones porcentuales.**INTRODUCCIÓN.**

Las disoluciones son mezclas homogéneas, es decir, son mezclas donde sus fases no se distinguen, por el contrario, en las mezclas heterogéneas, se observan dos o más fases. Las unidades físicas de concentración están expresadas en masa o en volumen. Las unidades de concentración más comunes son:

Molaridad: nos representa el número de moles de nuestro soluto disueltos en un litro de solución. Ésta se abrevia como M.

Normalidad: en química analítica, se utilizan los equivalentes disueltos en un litro de solución. Ésta se abrevia como N.

Porcentual: esta concentración puede ser expresada en gramos de soluto por cada 100 mL de solución, ésta se abrevia como %.

En el banco de sangre son importantes las concentraciones porcentuales, pues se emplean en ciertas determinaciones, por ejemplo, el lavado de eritrocitos, para el empleo de solución salina, etc.

En la preparación de disoluciones es esencial hacer las disoluciones usando agua que ha sido purificada eliminando los minerales que se encuentran en el agua de llave (sodio, calcio, magnesio, sulfato, cloruro, bicarbonato, etc.). La mayoría de los laboratorios tienen sistemas de purificación de agua, los que se basan en la destilación de ésta o bien en su desionización. El agua destilada es excelente para casi todas las aplicaciones, pero aún puede contener impurezas, debido a la presencia de sustancias volátiles. Cuando se preparan disoluciones de hidróxido de sodio, es recomendable eliminar el dióxido de carbono, ya sea hirviendo el agua o bien burbujeando en ella aire libre de dióxido de carbono durante una hora (Sanson M, et al., 2007).

OBJETIVO.

Que el alumno sea capaz de entender el procedimiento mediante el cual se preparan disoluciones, específicamente porcentuales, para poder preparar una solución al 0.9% de Cloruro de Sodio, que servirá en prácticas posteriores en el banco de sangre.

MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS.**MATERIAL.**

Vaso de precipitados
Guantes (por persona).
Agitador de vidrio.
Matraz aforado.
Vidrio de reloj.
Espátula.
Piseta.

EQUIPO.

Balanza granataria o bascula.

REACTIVOS

Una bolsa de sal común de mesa.
Agua destilada.





CONTENIDO.

3.1 EXPLICACIÓN DE LAS DISOLUCIONES PORCENTUALES.

Una disolución porcentual, se pueden expresar de la siguiente manera:

% p/p. Se usa para expresar el porcentaje en peso: es la cantidad de soluto en gramos por cada 100 gramos de disolución. En este caso, se utiliza para disolver un soluto sólido, en un disolvente sólido. Como en el caso de las amalgamas o en aleaciones.

% v/v. Se usa para expresar el porcentaje en volumen: es la cantidad de soluto en mL por cada 100 mL de disolución. En este caso, se utiliza para disolver un soluto líquido, en un disolvente líquido. Por ejemplo, para el caso de ácido clorhídrico (HCl) al 10%, significa que hay 10 mL de HCl grado reactivo por cada 100 mL de agua destilada.

% p/v. Se usa para expresar porcentaje en peso/volumen: es la cantidad de soluto en gramos por cada 100 mL de disolución. En este caso, se utiliza para disolver un soluto sólido, en un disolvente líquido. Por ejemplo, para el caso de cloruro de sodio (NaCl) al 5%, significa que hay 5 gramos de NaCl por cada 100 mL de agua destilada.

En el caso de banco de sangre es importante preparar disoluciones v/v y p/v.

Ejemplos:

Un ejemplo sería: para preparar 150 mL de NaCl al 0.9% se necesita.

- I. Lo primero que debemos conocer, es nuestro volumen final, en este caso es 150 mL de nuestro disolvente.
- II. Después, debemos entender el concepto de la concentración, 0.9% de NaCl, representa 0.9 gramos de NaCl por cada 100 mL de mi disolvente (en este caso agua destilada)
- III. Para saber la cantidad exacta que debo tomar de soluto, es decir, de NaCl para disolverlos en 150 mL (que es mi volumen final), debo de dividir 0.9/100. El 0.9/100 proviene de la concentración final que queremos.
- IV. El resultado anterior, debemos multiplicarlo por mi volumen final, que son 150 mL. Es decir $(0.9/100) \times 150$
En la siguiente ecuación se ve más explícito.

$$150 \text{ mL de disolucion} \times \frac{0.9 \text{ gramos de NaCl}}{100 \text{ mL de disolucion}}$$

- V. Esta regla aplica para la preparación de este tipo de disoluciones.
- VI. El resultado de la ecuación anterior es: 1.35 gramos, que es la cantidad de NaCl que necesito disolver en 150 mL, para obtener una concentración de 0.9%.

Otro ejemplo sería: preparar una solución de 500 microlitros al 3% de NaCl.

- I. Lo primero que debemos conocer, es nuestro volumen final, en este caso es de 500 μ L de nuestro disolvente.
- II. Después, debemos entender el concepto de la concentración, 3% de NaCl, representa 3 miligramos de NaCl por cada 100 μ L de mi disolvente (en este caso agua destilada).





- III. Para saber la cantidad exacta que debo tomar de soluto, es decir, de NaCl para disolverlos en 500 μL (que es mi volumen final), debo de dividir 3/100. El 3/100 proviene de la concentración final que queremos.
- IV. El resultado anterior, debemos multiplicarlo por mi volumen final, que son 500 mL. Es decir (3/100) x500
En la siguiente ecuación se ve más explícito.

$$500 \text{ uL de disolucion} \times \frac{3 \text{ miligramos de NaCl}}{100 \text{ uL de disolucion}}$$

- V. Esta regla aplica para la preparación de este tipo de disoluciones.
- VI. El resultado de la ecuación anterior es: 15 mg, que es la cantidad de NaCl que necesito disolver en 500 μL , para obtener una concentración de 3%.

Un último ejemplo especial sería: preparar una solución de 2000 microlitros de concentrado eritrocitario al 3%.

- I. Lo primero que debemos conocer, es nuestro volumen final, en este caso es de 2000 μL de nuestro disolvente.
- II. Después, debemos entender el concepto de la concentración, 3% de eritrocitos, representa 3 microlitros (μL) de concentrado eritrocitario por cada 100 μL de mi disolvente (en este caso es solución salina al 0.9%).
- III. Para saber la cantidad exacta que debo tomar de soluto, que en este caso es líquido, es decir, de concentrado eritrocitario para disolverlos en 2000 μL (que es mi volumen final), debo de dividir 3/100. El 3/100 proviene de la concentración final que queremos.
- IV. El resultado anterior, debemos multiplicarlo por mi volumen final, que son 2000 mL. Es decir (3/100) x2000
En la siguiente ecuación se ve más explícito.

$$2000 \text{ uL de disolucion} \times \frac{3 \text{ uL de NaCl}}{100 \text{ uL de disolucion}}$$

- V. Esta regla aplica para la preparación de este tipo de disoluciones.
- VI. El resultado de la ecuación anterior es: 60 μL , que es la cantidad de concentrado eritrocitario que necesito.
- VII. Aquí hay un paso adicional, como mi volumen de soluto es líquido, no sólido, debo restarle al volumen final (2000 μL) la cantidad de concentrado eritrocitario que necesito. Es decir 2000-60 = 1940 μL . Esta cantidad es lo que yo debo disolver junto con los 60 μL del concentrado eritrocitario.

3.2 PREPARACIÓN DE UNA DISOLUCIÓN PORCENTUAL.

Preparar por equipos, 100 mL de una solución de NaCl al 0.9%

Técnica:

- I. Realizar los cálculos necesarios para saber cuántos gramos de cloruro de sodio necesita para preparar los 100 mL de dicha disolución.
- II. Pesar los gramos de cloruro de sodio en la báscula.





- III. Añadir con la piseta a un vaso de precipitado de 150 mL, un poco de agua destilada, aproximadamente a la mitad de su volumen total. Esto con la finalidad de poder disolver los gramos de cloruro de sodio.
- IV. Añadir los gramos de cloruro de sodio previamente pesados, al vaso de precipitados.
- V. Con ayuda de un agitador de vidrio, disolver completamente el cloruro de sodio.
- VI. Una vez disueltos los gramos, con mucho cuidado se debe pasar el contenido del vaso de precipitados a un matraz aforado.
- VII. Con la piseta, agregar un poco de agua destilada al vaso de precipitados y enjuagar tanto el vaso como el agitador de vidrio (esto con la finalidad de que los gramos de cloruro de sodio que pudieran quedar adheridos al vidrio se despeguen) y agregarlos al matraz aforado.
- VIII. Con ayuda de la piseta se debe llenar el volumen del matraz aforado hasta la línea de aforo.
- IX. Tapar el matraz aforado.
- X. Hacer giros de 180° al matraz, para mezclar completamente la disolución.
- XI. Trasvasar el contenido del matraz a un recipiente limpio previamente etiquetado con el contenido que tendrá, la fecha en que se realizó, la concentración y quién fue el que hizo la disolución.

3.3 EXPLICACIÓN DE DILUCIONES.

Fundamento:

Una dilución es la disminución de la concentración de una sustancia, generalmente líquida, hacia una concentración menor. Esto se realiza añadiendo un disolvente a la sustancia.

Técnica:

- I. Lo primero para hacer una dilución debemos saber el volumen final que vamos a querer de la sustancia inicial, es decir, si tengo 2 mL de ácido clorhídrico debo saber cuántos mL quiero diluir, por ejemplo 6 mL.
- II. Lo siguiente es saber cuál será la dilución que yo voy a realizar, por ejemplo, dilución 1:10, 1:20, 1:40, etc. El significado, por ejemplo, de 1:10 es que yo estoy diluyendo en 10 porciones mi volumen inicial, llevando esas 10 porciones a nuestro volumen final.
- III. Para saber cuánto debo de tomar de diluyente se hace la siguiente fórmula

$$V_D = V_F - \left(\frac{V_F}{C_D}\right)$$

Donde:

$$V_D = \text{Volúmen del diluyente}$$

$$V_F = \text{Volúmen final}$$

$$C_D = \text{Concentración de la dilución}$$

- IV. Una vez obtenido el volumen del diluyente que necesito, debo restar al volumen final el volumen del diluyente, esto con la finalidad de saber cuál es el volumen de la muestra que debo ocupar para diluir.





$$V_{MSTA} = V_F - V_D$$

Donde:

$$V_{MSTA} = \text{Volumen de la muestra}$$

$$V_D = \text{Volúmen del diluyente}$$

$$V_F = \text{Volúmen final}$$

POR EJEMPLO: cuál es el volumen de ácido clorhídrico (HCl) concentrado que se necesita para hacer una dilución 1:20 en 3 mL.

$$V_D = 3 - \left(\frac{3}{20}\right) = 2.85 \text{ mL de diluyente}$$

$$V_{MSTA} = 3 - 2.85 = 0.15 \text{ mL de HCl}$$

En este ejemplo, yo necesito tomar 0.15 mL de HCl concentrado y diluirlo en 2.85 mL de agua destilada para así tener una dilución final de 1:20.

3.4 RESOLUCIÓN DE EJERCICIOS.

- Calcule cuantos gramos necesita de NaCl al 10% para preparar 180 mL de dicha disolución.
- Calcule cuantos μL de concentrado eritrocitario necesita para preparar una disolución de 2 mL al 4.5% en solución salina fisiológica

RESULTADOS.

Anote los cálculos necesarios que utilizó para la parte experimental de la preparación de la disolución salina fisiológica. De ser necesario utilice otra hoja.

Realice el procedimiento completo para cada uno de los ejercicios

BIBLIOGRAFIA.

- Sanson M et al., (2007). Manual de prácticas. Química analítica I. México: Facultad de Química, U.N.A.M.





Práctica No. 4
Toma de muestra sanguínea.

INTRODUCCIÓN.

La sangre es un tejido conjuntivo especializado, consta de elementos formes que están suspendidos en un líquido llamado plasma y que son transportados en el mismo. Los elementos formes -eritrocitos, leucocitos y plaquetas- funcionan, respectivamente, en el transporte de oxígeno, la defensa inmunitaria y la coagulación de la sangre. El volumen sanguíneo total en el adulto de talla promedio es de alrededor de 5L, y constituye casi el 8% del peso corporal total. Los elementos formes constituyen alrededor del 45% del volumen sanguíneo total y el plasma es el 55% restante (Ira S, 2014).

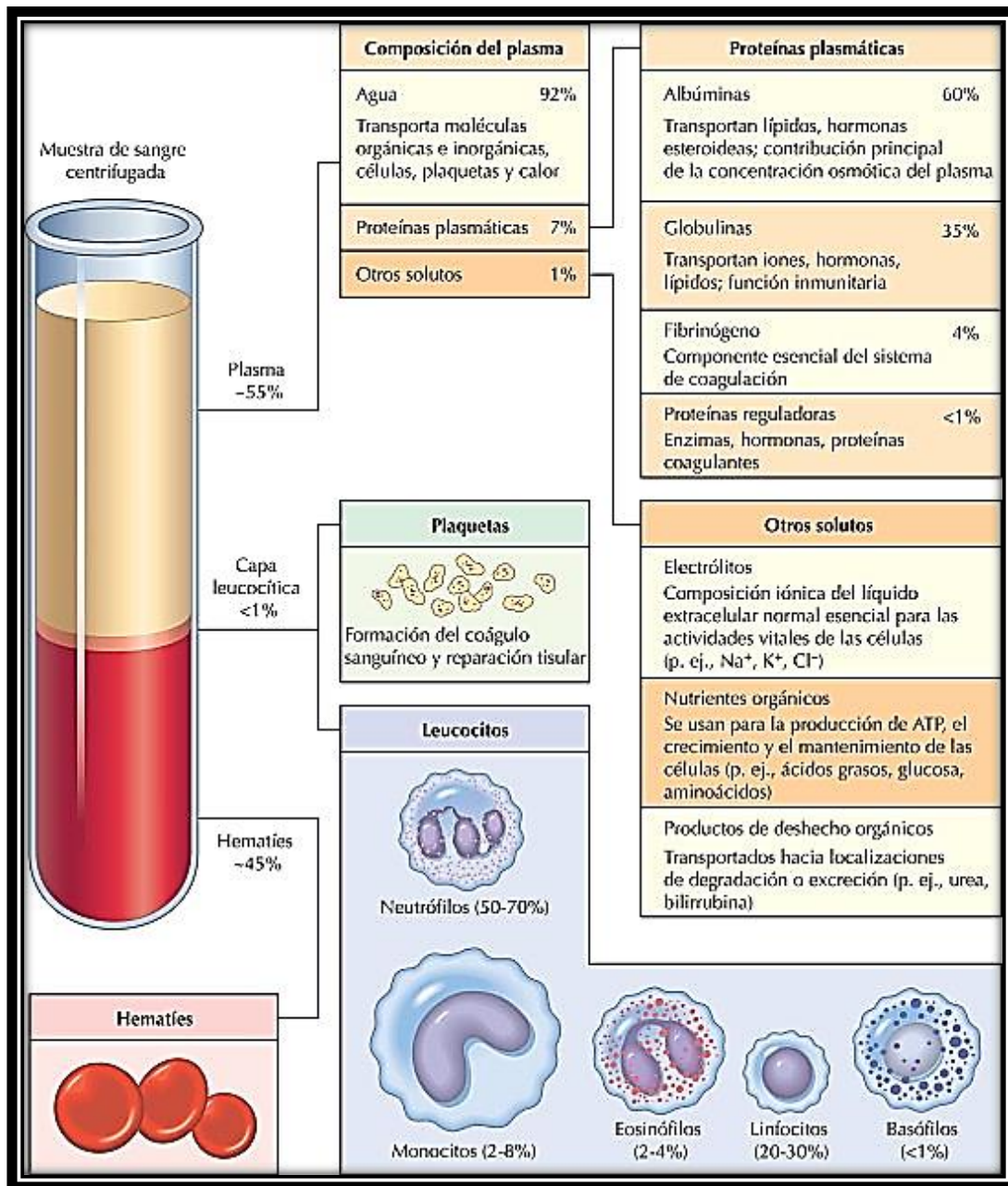


Imagen 9. Composición de la sangre centrifugada. Extraída de: <https://bit.ly/2iVSrOz>



El proceso de donación que ocurre en el banco de sangre, está compuesto por *fases*: la fase preanalítica, analítica y postanalítica. La fase preanalítica comienza, desde que el donante llega al servicio y se le toman sus datos personales y signos vitales. La etapa analítica comienza una vez que al donante ya se le toman las muestras sanguíneas iniciales y se analizan para saber si está cursando por algún proceso infeccioso, anémico o lipémico; conocer la cantidad de células sanguíneas, se incluye la donación sanguínea y el análisis serológico de la sangre donada. La etapa postanalítica se incluye la expedición de resultados por parte de serología y el aseguramiento de que la sangre es segura.

El proceso mediante el cual se extrae una cantidad de sangre de una vena se denomina flebotomía o venopunción. En banco de sangre se realizan punciones venosas para la obtención de la muestra inicial en la fase analítica y cuando se efectúa la donación (o sangrado).

Para una punción venosa eficaz, es importante examinar cuidadosamente las venas del pliegue del codo, mediante palpación, para apreciar el calibre, la elasticidad de la pared venosa, su profundidad en relación con la piel y las estructuras anatómicas del entorno. Las agujas para la venopunción empleadas actualmente son de excelente calidad y diseño, ya que permiten una punción fácil y casi indolora; cuando la punción es difícil o dolorosa, la técnica es inadecuada y el flebotomista debe revisar su destreza (Rodríguez H, et al., 2014).

El método de obtención para obtener una muestra de sangre se denomina "sistema al vacío" y se emplean tubos que tienen un vacío. Los tubos pueden tener diferentes **aditivos** que actúan como procoagulantes (para la obtención de suero) o como anticoagulantes (para la obtención de plasma). Los aditivos más comunes son:

- **Agente antiglucolítico.** La glucosa es un metabolito que utilizan las células sanguíneas, ciertas sustancias como el fluoruro de sodio y el yodacetato de litio, son sustancias que inhiben la utilización de la glucosa por estas células.
- **Anticoagulante.** Cuando se utilizan este tipo de aditivos, se impide la formación del coagulo. El anticoagulante más utilizado es el EDTA y citrato de sodio, que se unen con el calcio de la sangre lo que impide la cascada de coagulación, la heparina, por el contrario, impide el paso de conversión de protrombina a trombina.
- **Coagulante.** Al contrario que los anticoagulantes, estas sustancias favorecen que comience la coagulación. Los llamados activadores de la coagulación son partículas de vidrio o de sílice, su mecanismo de acción, en general, es el de activar a las plaquetas que favorece la coagulación y a la vez favorecer a la trombina.

Se recomienda que el orden de la extracción, cuando se llegaran a tomar varias muestras, a partir de una sola punción venosa, se haga de la siguiente manera, como muestra la imagen. Esto se realiza para minimizar errores a la hora de cualquier toma de muestra.



Orden de toma para recolección de sangre venosa

Tapón	Contenido de tubo	Área de uso	Inversiones
	Citrato de sodio	Coagulación (Tiempos de coagulación fibrinógeno, y agregación plaquetaria)	3 a 4 veces
	Gel separador	Química clínica	5 veces
	Sin anticoagulante, con activador de coagulación, con silicón	Química clínica, banco de sangre serología	8 a 10 veces
	Gel separador y trombina	Obtención de suero rápido	5 a 6 veces
	Heparina de sodio/litio	Química clínica (urgencias) hematología (fragilidad osmótica)	8 a 10 veces
	EDTA _{K2}	Hematología, banco de sangre	8 a 10 veces
	Gel separador y EDTA _{K2}	Determinaciones de carga viral	8 a 10 veces
	Oxalato de Potasio/NaF	Química clínica, pruebas de lactato y glucosa	8 veces

Imagen 10. Orden de tubos. Extraída de: <https://goo.gl/TtzUbs>

Una vez que se han obtenido los tubos con la muestra sanguínea se deben de invertir suavemente, esto con la finalidad que el aditivo se mezcle con la sangre. La inversión debe de ser sin agitar fuertemente para evitar hemólisis. En la siguiente imagen se observa mejor dicha técnica.

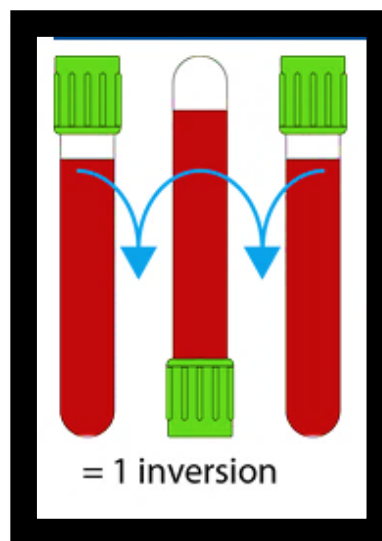


Imagen 11. Inversión de los tubos al vacío. Extraído de: <https://bit.ly/2lcxuJG>.

La manera más común de recolección de las muestras de sangre es el empleo de un sistema de tubo al vacío. El sistema presenta un tubo, que puede ser de plástico o de vidrio, una aguja y adaptador o Holder, que se utiliza para asegurar la aguja y el tubo. Los tubos contienen una cantidad preestablecida de un aditivo sellado al vacío. Por lo general están recubiertos con silicona para disminuir la posibilidad de hemolisis y evitar que el coágulo se adhiera a las paredes laterales. Existen tubos de diferentes tamaños que contienen diversos aditivos. Si bien hay muchos fabricantes de tubos al vacío, todos respetan un código de color universal en que el color del tapón del tubo indica el tipo de aditivo que contiene (Rodak B, et al., 2014). En la siguiente imagen se ilustra cómo está compuesto el sistema de recolección de sangre al vacío.

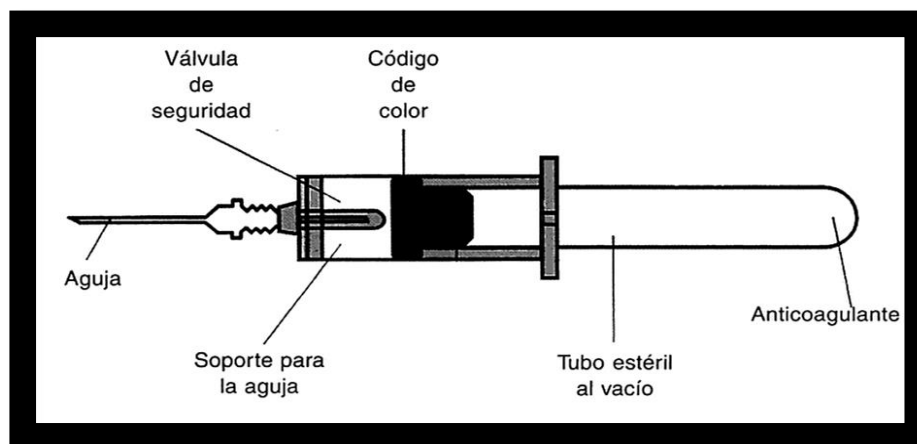


Imagen 12. Sistema al vacío. (Moran L, 2014).

La muestra sanguínea inicial que se le toma al donador es para conocer en general su estado de salud, y conocer la cantidad de células sanguíneas. Una vez que el medico indica que es apto para la donación (después de la entrevista medica), debe pasar al área de **sangrado**, lugar en el cual se hace la extracción de la sangre.

El procedimiento de extracción de la sangre debe ser aséptico para evitar que a la unidad de sangre ingresen microorganismos que eventualmente puedan comprometer la salud del receptor de la sangre. Por otra parte, la asepsia se constituye también en un modo de proteger al donante. La piel en el sitio elegido para la venopunción debe ser escrupulosamente desinfectada utilizando soluciones jabonosas, jabones yodados y alcohol. La sangre debe ser recolectada en un sistema cerrado de bolsas plásticas, estas bolsas contienen la cantidad adecuada de anticoagulante para la recolección de 450 ± 45 mL de sangre, lo cual se verifica pesando las bolsas una vez realizada la donación. Las bolsas plásticas vienen en diferentes presentaciones. La elección del tipo de bolsa (sencilla, doble, triple o cuádruple) depende de los componentes o hemoderivados que pretendamos obtener a partir de la sangre que se va a extraer (lo que se conoce como fraccionamiento sanguíneo). La ventaja de los sistemas cerrados de bolsas plásticas múltiples es que permiten de manera fácil, eficiente y segura la separación de los diferentes hemoderivados que se obtienen a partir de la sangre total. Estas bolsas resisten, sin dañarse, grandes velocidades de centrifugación y bajas temperaturas. De igual manera, permiten, según el tipo de plástico, el intercambio de gases con el medio ambiente (Dueñas V, 2003). En la siguiente imagen se pueden observar los diferentes tipos de bolsas que más se utilizan en banco de sangre.

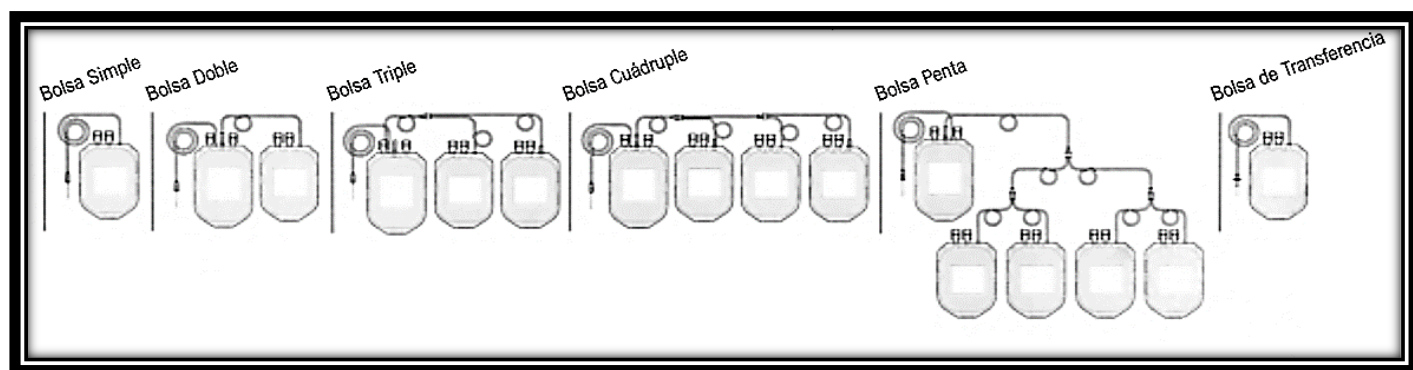


Imagen 13. Sistema de bolsas de sangre. TERUMO medical de México, SA de CV.

OBJETIVO.

Conociendo la anatomía de las venas del brazo, el alumno será capaz de aplicar el método de punción venosa por sistema al vacío para obtener una muestra sanguínea de buena calidad y así adquirir los conocimientos y destrezas necesarias para realizar una buena venopunción en el banco de sangre.

ACTIVIDAD PREVIA.

Investigue las siguientes preguntas:

1. ¿Cuáles son los tipos de anticoagulantes más utilizados para la venopunción y los anticoagulantes más utilizados en banco de sangre?
2. ¿Qué significan las siglas EDTA?
3. Indique cuál es la diferencia entre plasma y suero.
4. ¿Qué es la hemólisis y qué es lo que la causa?
5. ¿Qué es la lipemia y qué es lo que la causa?
6. ¿Qué es la ictericia y qué es lo que la causa?
7. Busque una imagen que represente la hemólisis, ictericia y lipemia.

MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS.

MATERIAL.

Gradilla.
Tubos vacutainer al vacío.
Holder para tubos al vacío.
Torundas con alcohol etílico al 70%
Palanganas para desechos.
Torniquete.
Servitoallas.
Agujas de doble filo.
Papel parafilm.
Contenedor para punzocortantes.

Gradilla para tubos de ensaye.
Marcador indeleble.
Piseta con agua destilada.

EQUIPO.

Centrífuga clínica.

REACTIVOS.

Benzal.
Agua destilada.



4.1 TOMA DE MUESTRA SANGUÍNEA VENOSA.

Técnica:

Nota: En banco de sangre, es muy importante verificar que la persona que vamos a puncionar, coincida con los rótulos presentes en los tubos al vacío, por lo cual le preguntamos su nombre completo.

- I. Se debe colocar al paciente en un ambiente adecuado, la punción debe de realizarse con el paciente sentado para evitar accidentes si es que se llegara a marear o desmayar.
- II. Se tiene que asegurar que el material que se vaya ocupar, esté cerca del flebotomista, como: ligadura, tubos al vacío, aguja para tubo al vacío, Holder, torundas, etc.
- III. Antes que nada, el flebotomista se debe lavar las manos, conforme a lo revisado en la práctica No. 2 de Bioseguridad.
- IV. La persona debe de usar guantes de su medida y de preferencia cubrebocas.
- V. Se selecciona la vena adecuada para la punción. Normalmente al realizar una venopunción se deben localizar las venas del antebrazo, las venas: central, cefálica y basílica. En la siguiente imagen, se visualizan mejor.

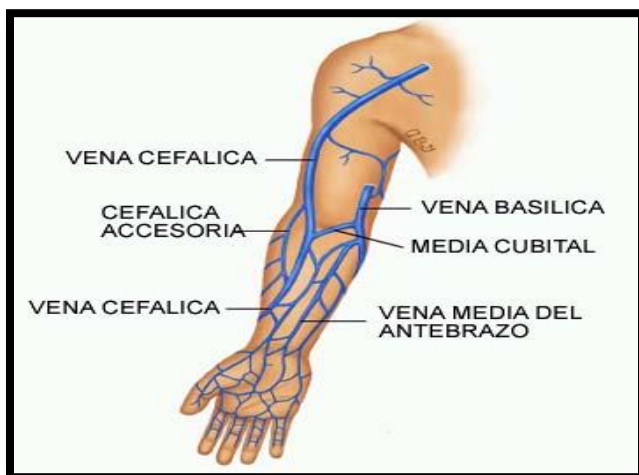


Imagen 14. Sitos ideales para la venopunción. Extraído de: <https://goo.gl/VV9X9x>

- I. En caso de que las venas no se observen bien, se le puede decir al paciente que abra y cierre su mano para que las venas sean más palpables.
- II. Se abre la aguja de doble filo frente al paciente, mencionándole que la aguja es "completamente nueva" y se coloca en el Holder para tenerla lista para la punción, sin retirar el plástico de la parte superior de la aguja.
- III. Ya que se localizó la vena, se debe de hacer la limpieza o asepsia correcta, para esto se limpia la zona a puncionar con una torunda humedecida con alcohol isopropílico o etílico al 70%. Realizar la limpieza con movimientos en espiral del centro de la zona de punción, hacia la periferia.
- IV. Cuando se termina de hacer la asepsia, se debe esperar a que seque el alcohol, está prohibido soplarle al brazo o secar con movimientos de la mano.
- V. Se coloca al torniquete con la ligadura, aproximadamente de 8 a 10 cm por arriba del sitio de punción, y no aplicando demasiada presión sobre el brazo, esto con la finalidad de evitar que los resultados se vean alterados. **NO SE DEBE DEJAR POR MÁS DE UN MINUTO.**

- VI. Para evitar que la vena se mueva, se debe fijar por debajo del lugar de punción, utilizando el dedo índice.
- VII. Se introduce la aguja en un ángulo de 30° en la piel, en un solo movimiento para reducir el dolor, con el bisel hacia arriba y siguiendo la dirección de la vena, aproximadamente 20 mm.
- VIII. Una vez que la aguja está en la vena, se mantiene firmemente en su lugar, sosteniendo fuertemente el Holder para poder introducir los tubos al vacío. Respetando el orden de la toma.
- IX. Retirar la ligadura en cuanto la sangre empiece a drenar.
- X. Una vez que se haya llenado el tubo, se debe retirar y enseguida invertir de forma suave como se indica en la imagen 11 de la **introducción**.
- XI. Para finalizar la venopunción, primero se debe retirar el tubo y después la aguja, depositándolo en su contenedor correspondiente.
- XII. Finalmente, al mismo que se retira la aguja, se coloca una torunda seca e indicarle al donador que presione con el brazo estirado aproximadamente 5 minutos. Colocar un parche adhesivo, de preferencia. Podemos resumir esta técnica en la siguiente imagen:

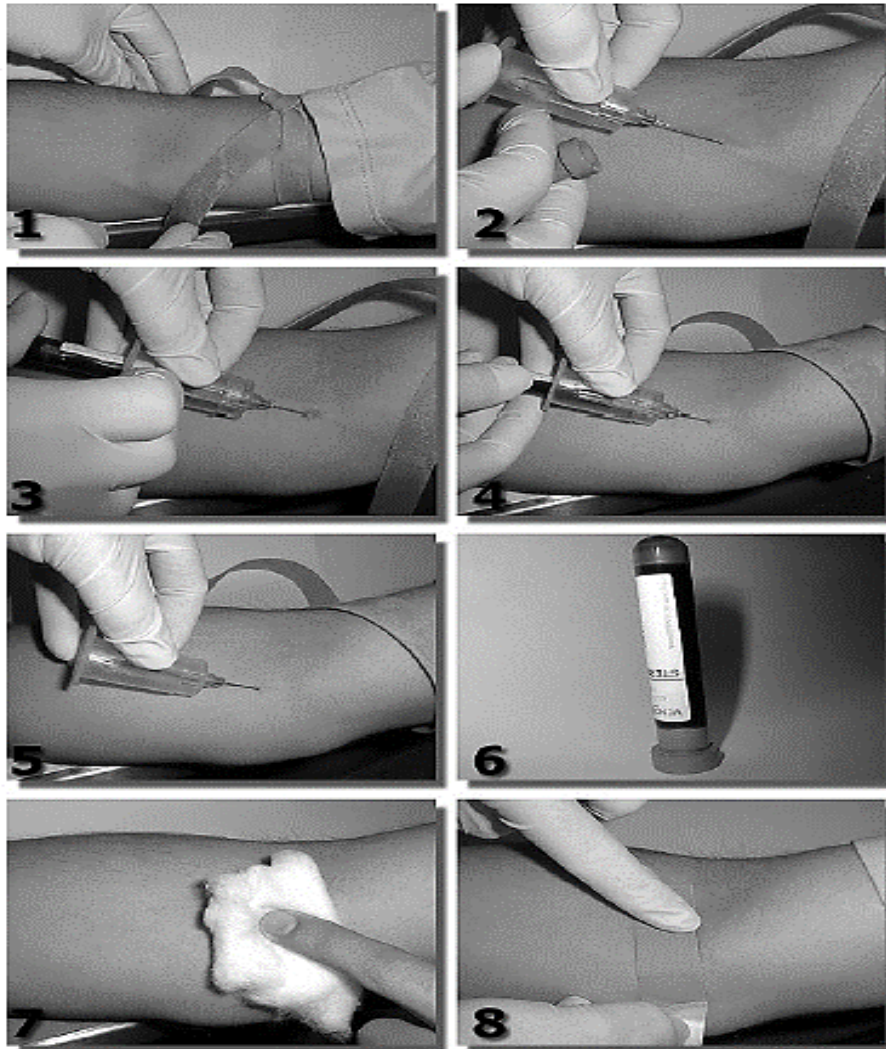


Imagen 15. Fases en la extracción de sangre venosa. (Roca P, et al., 2003).



Actividad: Una vez obtenidas las muestras y finalizada la experiencia, se debe llenar la tabla número 6, con forme a la persona que punciono y las observaciones de la técnica, dentro del apartado de **resultados** de esta práctica experimental.

RESULTADOS.

Tabla 6. Resultados de la toma de muestra

Datos del paciente	Flebotomista	Tipo de muestra obtenida	Observaciones

BIBLIOGRAFÍA.

- Dueñas V. (2003). El bando de sangre. Cali, Colombia: Universidad del Valle.
- Ira S. (2014). Fisiología humana. México: McGraw-Hill Educación.
- Roca P, et al., (2003). Bioquímica técnicas y métodos. Madrid, España: Hélice.
- Rodak B, et al., (2014). Hematología. Fundamentos y aplicaciones clínicas. México: Medica Panamericana.
- TERUMO. Sistema de bolsas de sangre TERUMO. TERUMO MEDICAL DE MÉXICO SA DE CV.

MANEJO DE RESIDUOS.

Papel, servitoallas, torundas con poca sangre o con alcohol (ambos no empapados), guantes, cubrebocas, plástico.

Desechar en la basura municipal.

Punzocortantes.

Contenedor rígido rojo.

Tubos vacutainer con sangre.

Bolsas rojas de polipropileno.

Torundas con mucha sangre o escurriendo de sangre.

Bolsas rojas de polipropileno





Práctica No. 5 Citometría Hemática.

INTRODUCCIÓN.

El término citometría hemática parece ser el más adecuado para referirse a la medición de las células de la sangre (citos=célula, metros=medida, haematos=sangre). El clásico término de la biometría hemática (bios=vida, metros=medida) es incorrecto en tanto que el estudio no se refiere a la medida de la vida, por lo que debiera abandonarse (Ruiz G, 2009).

La citometría hemática es el estudio más utilizado en el banco de sangre, pues permite conocer el estado de salud del posible donador. Podemos decir, en sí, que la citometría hemática incluye en estudio de los glóbulos rojos, los glóbulos blancos y las plaquetas, y a su vez se desglosa en otras mediciones para complementarlos. Por ejemplo, dentro de la estirpe eritrocitaria incluye el recuento total de los mismos, índices eritrocitarios (VCM, HCM, CHCM), medición de hemoglobina y hematocrito; en la estirpe leucocitaria se incluye en recuento total de los mismos y un conteo diferencial; finalmente en las plaquetas se incluye su recuento y sus características morfológicas.

El número de **glóbulos rojos**, es un recuento de ellos contenido en 1 mm³ de sangre venosa periférica. En cada glóbulo rojo o hematíe existen moléculas de hemoglobina que permiten el transporte e intercambio de oxígeno hacia los tejidos y de dióxido de carbono desde éstos. Se producen a partir de los elementos eritroides en la médula ósea y, su producción aumenta bajo la estimulación de la eritropoyetina entre otros factores como las interleucinas. En condiciones normales, los glóbulos rojos sobreviven en sangre periférica durante unos 120 días; durante ese lapso, se movilizan a través del torrente sanguíneo y, dentro de los capilares más pequeños, deben plegarse para adaptarse al tamaño de los vasos. Los valores normales varían de acuerdo con el género y la edad de la persona; las mujeres tienden a mostrar valores menores que los hombres y los recuentos eritrocíticos disminuyen a menudo con la edad (Pagana K, Pagana T. 2014).

La **concentración de hemoglobina (Hb)** es una medida de la cantidad total en sangre periférica. La hemoglobina funciona como un vehículo para el transporte de oxígeno y dióxido de carbono y se encuentra dentro de los eritrocitos. La capacidad de transporte de oxígeno en la sangre está determinada por la concentración de hemoglobina (Pagana K, Pagana T. 2014).

La concentración de hemoglobina se mide en gramos por decilitro (g/dL) y representa la cantidad de esta proteína por unidad de volumen. Este parámetro debe ser el único a emplear para definir si hay o no anemia, es decir, solo si las cifras de hemoglobina son inferiores a los valores normales puede asegurarse que existe anemia. Las cifras "normales" o "de referencia" de la hemoglobina son variables y dependen de: edad, sexo, altura del sitio de residencia, etc. (Ruiz G, 2009).

El **hematocrito (Hto)** en términos generales, es el porcentaje del volumen total de sangre que se compone de glóbulos rojos. Muchas veces se utiliza de forma indirecta para saber el número y volumen de glóbulos rojos.

Los **índices eritrocitarios** expresan diferentes características de los hematíes. Se denominan índices eritrocitarios primarios al recuento de hematíes (GR), el hematocrito (Hto) y a la concentración de hemoglobina (Hb). A partir de ellos podemos obtener índices eritrocitarios secundarios, que son: Volumen Corpuscular Medio (VCM), Hemoglobina Corpuscular Media (HCM), Concentración de



Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM), Índice de distribución eritrocitaria (IDH) y Anchura de la distribución de la Hemoglobina (ADH) (García B, et al. 2015).

El **conteo de leucocitos**, cuya variación numérica se puede asociar, a la presencia de agentes infecciosos para los humanos, que obligan al organismo a modificar su producción; o bien puede asociarse a alteraciones en el sitio de su producción (medula ósea), significando una enfermedad hematológica (leucemia o aplasia), así como asociarse a procesos inflamatorios diversos (McKenzie S, 2005).

Finalmente, las plaquetas son células cuya función principal es participar en la casada de coagulación, en donde actúan para evitar que las personas tengan un sangrado excesivo cuando sufren un rompimiento de un vaso sanguíneo. Además, que también ayudan a la regeneración del tejido dañado. En la siguiente imagen se pueden observar las diferentes células que componen en tejido sanguíneo.

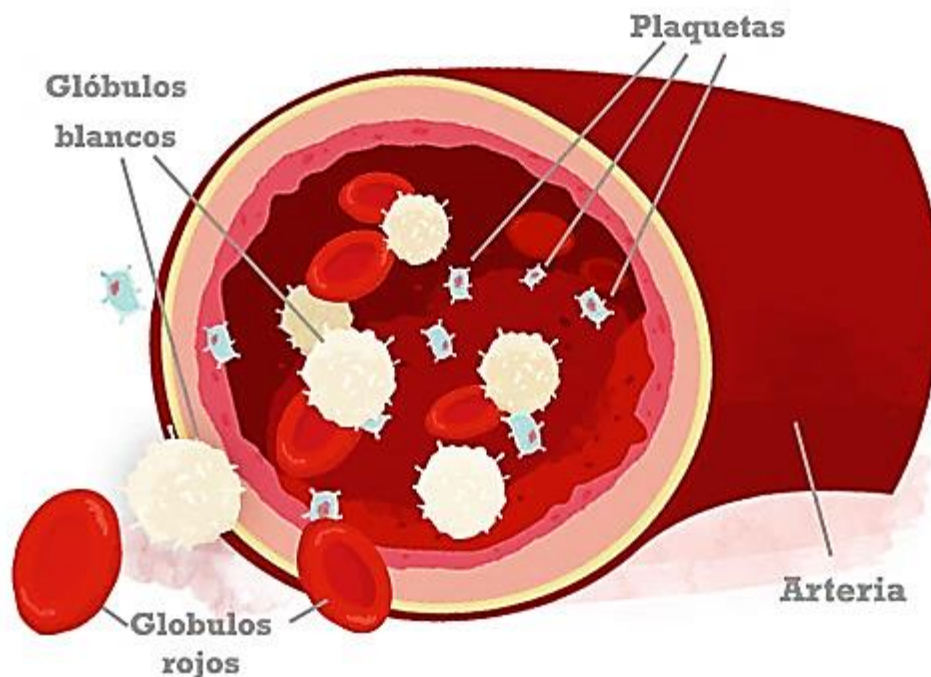


Imagen 16. Composición del tejido sanguíneo. Extraída de: <https://bit.ly/2nm09xs>.

Para el conteo de eritrocitos, leucocitos y plaquetas se pueden utilizar equipos automatizados o la cámara de Neubauer. La cámara de Neubauer, está formada por cuatro cuadros primarios periféricos, **CPP** y su vez por un cuadro primario central, **CPC**. Del mismo modo, cada cuadro primario periférico se subdivide en cuadros secundarios. Finalmente, el cuadro primario central, se subdivide en cuadros secundarios, que a su vez se subdividen en cuadros terciarios.

OBJETIVO.

Permitir que el alumno comprenda los fundamentos de cada uno de los métodos básicos de que se usan para la realización de una citometría hemática aplicada al banco de sangre, mediante la medición de eritrocitos, leucocitos, hemoglobina hematocrito e índices eritrocitarios para que desarrolle habilidades en su elaboración.



MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS.

MATERIAL.

Tubos de ensaye de 12x75 mm.
Material necesario para realizar una venopunción por sistema al vacío.
Tubos al vacío con EDTA (tapón lila).
Estuche de hemocitómetro que incluya: cámara de Neubauer, cubreobjetos específico y pipetas de Thoma.
Papel parafilm.
Bolsa roja.
Contenedor de punzocortantes.

EQUIPO.

Centrífuga clínica.
Microscopio óptico.
Espectrofotómetro.
Lector de microhematocrito.

REACTIVOS.

Solución de Turk.
Solución de NaCl al 0.9%
Hipoclorito de sodio al 5%
Solución de Hayem.
Solución de oxalato de amonio.
Aguda destilada.

CONTENIDO.

5.1 OBTENCIÓN DE LA MUESTRA BIOLÓGICA POR SISTEMA AL VACÍO.

Técnica:

- I. Realizar una venopunción por la técnica de sistema al vacío, para obtener un tubo de sangre completa anticoagulada con EDTA (tubo de tapón lila).

Nota: antes de procesar una muestra sanguínea, principalmente para CH, deberá homogeneizarse para evitar que en ella no se formen coágulos o microcoágulos pues pueden interferir en la medición de los valores e incluso tapar el equipo automatizado.

5.2 CUANTIFICACIÓN MANUAL DE GLÓBULOS ROJOS O ERITROCITOS.

Fundamento:

En la cuantificación manual de eritrocitos se ocupa sangre entera, que contiene tanto eritrocitos como leucocitos y plaquetas, para su destrucción de estas dos últimas estirpes se emplea la solución de Hayem. El líquido de Hayem está compuesto por una solución tamponada con una osmolaridad tal que evita la hemólisis y la deformación de las membranas del eritrocito, al mismo tiempo evita la hemaglutinación y lisa a los leucocitos y plaquetas.

Técnica:

- I. Etiquetar un tubo de ensaye de 12x75 mm con plumón indeleble como GR (Glóbulos Rojos).
- II. Se debe limpiar la cámara de Neubauer con una gasa impregnada de alcohol isopropílico al 70% con mucho cuidado para no rayar la cámara.
- III. Limpiar también el portaobjetos que contiene la cámara con mucho cuidado por ambos lados de preferencia con papel para limpiar microscopios o con microfibrilla.
- IV. Poner el portaobjetos con mucho cuidado sobre la cuadrícula de la cámara.
- V. Homogeneizar el tubo al vacío con la muestra biológica de 5 a 8 veces.



- VI. Sacar la pipeta de Thoma para eritrocitos (pipeta roja) del hemocitómetro. La pipeta contiene una manguera adicional para poder aspirar la sangre sin sufrir algún tipo de peligro para el analista.

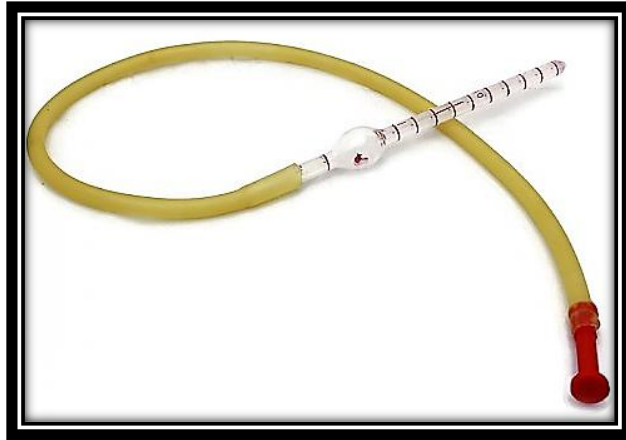


Imagen 17. Pipeta de Thoma para la cuantificación manual de eritrocitos, compuesta por la manguera adicional y boquilla para succión. Extraída de: <https://bit.ly/2k13HGc>.

- VII. La pipeta de Thoma tiene dos marcas, la primera marca dice 0.5 y la segunda marca 101. En la siguiente imagen se observa mejor las marcas de aforo de la pipeta de Thoma para eritrocitos.



Imagen 18. Pipeta de Thoma para glóbulos rojos. Extraída de: <https://bit.ly/2L7Vg8b>.

- VIII. Se debe aspirar por la boquilla la muestra biológica hasta la marca de 0.5 sin la formación de burbujas.
- IX. Limpiar el exceso de muestra biológica que puede quedar en la parte externa de la pipeta con una gasa limpia.
- X. Una vez listo se debe aspirar nuevamente, pero ahora el diluyente (solución de Hayem) hasta la marca de 101. Con esto se logra el aforo y la dilución de la muestra biológica.
- XI. Limpiar el exceso de muestra biológica que puede quedar en la parte externa de la pipeta con una gasa limpia.
- XII. Ladear un poco la pipeta para evitar que se salga la dilución.
- XIII. Sellar cuidadosamente la parte inferior de la pipeta con papel parafilm.
- XIV. Una vez tapada la parte inferior de la pipeta, se debe quitar la manguera accesoria y tapar ahora la parte superior de la misma con papel parafilm.
- XV. Homogeneizar la pipeta suavemente durante 2 minutos. Hasta este momento la dilución es de 1:200.
- XVI. Antes de llenar la cámara de deben desechar las primeras 4 gotas con la finalidad de que sea lo más preciso posible.

- XVII. La cámara se debe de llenar por capilaridad, poniendo la pipeta de Thoma sobre el borde de la cámara y el portaobjetos. Se debe dejar caer una gota cuidadosamente. Cuidar que no se derrame el líquido de la dilución.

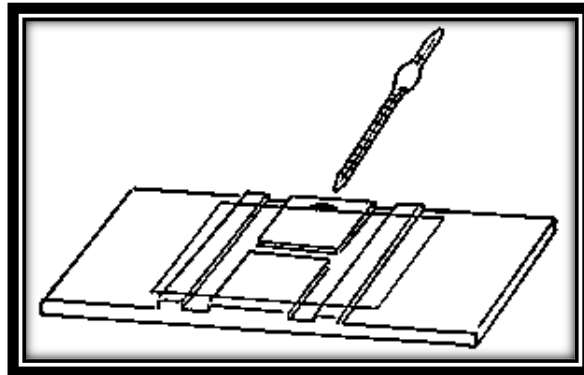


Imagen 19. Llenado del Hemocitómetro o Cámara de Neubauer. Tomado de goo.gl/mG2TWK.

- XVIII. Se debe dejar reposar una vez llena esto con la finalidad de que los eritrocitos sedimenten, aproximadamente 3 minutos.
- XIX. Una vez transcurrido el tiempo, se pone la cámara sobre la platina del microscopio óptico.
- XX. Con el objetivo de 10X, enfocar con el macrométrico y micrométrico de ser necesario, el Cuadro Primario Central. En la siguiente imagen se observa donde se hace el conteo de los glóbulos rojos.

 **Áreas conteo Glóbulos Rojos**

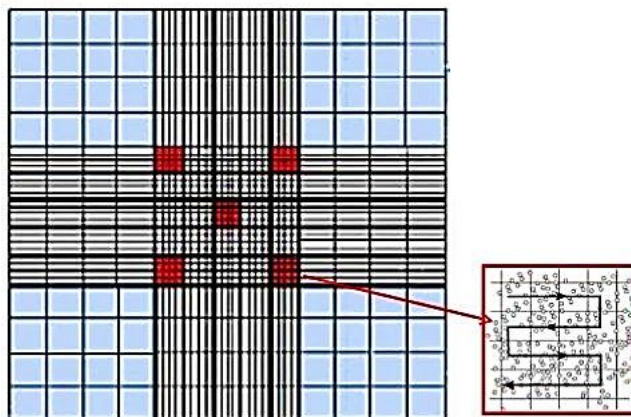


Imagen 20. Conteo de glóbulos rojos. La cuadrícula central se divide en cuadros secundarios centrales (los 4 de las esquinas y el central). Extraída de: <https://bit.ly/2L5I2bZ>.

- XXI. Mover el revolver para pasar al objetivo de 40X y enfocar con el macrométrico y micrométrico de ser necesario.
- XXII. Una vez enfocado, se deben contar el número de eritrocitos en 5 Cuadros Secundarios Centrales. Se recomienda contar los 4 de cada esquina y el del centro, como se muestra en la imagen anterior.
- XXIII. Contar los eritrocitos que estén dentro de los 16 cuadros terciarios centrales.

**Calculo:**

- Realizar la siguiente fórmula que aplica para el conteo total de eritrocitos por microlitro o por mm³.

$$\# \text{ células contadas} \times \left(\frac{1}{\# \text{ CSC contados} \times 0.004} \times \text{factor de dilución} \right)$$

Así, por ejemplo, en una muestra de sangre entera, se contaron 5 cuadros secundarios centrales (CSC) y se contó un total de eritrocitos de 350. Calcular el número de eritrocitos por microlitro si la dilución fue de 1:200.

$$350 \times \left(\frac{1}{5 \times 0.004} \times 200 \right) = 3,500,000 \text{ eritrocitos}/\mu\text{L}$$

- La fórmula cambia en función de la dilución que se ocupe y el número de CSC que se cuenten.

Una vez realizados los cálculos, debes de escribirlos en la sección de resultados, indicando el procedimiento para obtener el resultado, así como las unidades correctas en cada caso.

Valores de referencia:

Mujeres: 3.8-5.6x10⁶/μL

Hombres: 4.5-6.3x10⁶/μL

Significado Clínico:

Aumento: Cuando el conteo celular se encuentra elevado se denomina eritrocitosis o poliglobulia, y puede deberse a:

- Cardiopatía congénita: en este tipo de enfermedades se aumentan los glóbulos rojos porque se producen cifras bajas de PO₂
- Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) grave: Este es un estado de hipoxia grave, lo cual estimula una producción de glóbulos rojos como una reacción fisiológica para incrementar la capacidad de transporte de oxígeno.
- Policitemia Vera: esta enfermedad es cuando hay una inapropiada producción de glóbulos rojos en la médula ósea (que es la responsable de la producción de las células sanguíneas).
- Deshidratación grave: cuando se pierde líquido extracelular como quemaduras o diarrea grave, el volumen de sangre total disminuye, y los glóbulos rojos se comienzan a concentrar, lo que hace un aumento de éstos por microlitro.
- Talasemia: en estas enfermedades la hemoglobina se encuentra de manera anormal, por lo que se pueden producir más glóbulos rojos para conseguir una adecuada oxigenación

Disminución: Cuando el conteo celular se encuentra disminuido se denomina eritrocitopenia, y puede deberse a:

- Anemia: En un estado en el cual el número de eritrocitos y hemoglobina está reducido.
- Hemoglobinopatías: en este tipo de enfermedades la hemoglobina se encuentra alterada lo que hace que el número y tiempo de vida de los glóbulos rojos se vea disminuido.
- Cirrosis: cuando hay un problema hepático, los glóbulos rojos se diluyen y el número por microlitro disminuye.





- Anemia hemolítica: en este tipo de enfermedades, los eritrocitos se destruyen dentro de los vasos sanguíneos lo que hace una disminución de eritrocitos.
- Hemorragia: cuando existe un sangrado crónico, el número de glóbulos rojos disminuye.
- Enfermedad renal: la eritropoyetina, que es la principal hormona estimulante para la producción de eritrocitos, se produce en los riñones, cuando hay daño renal la cantidad de eritropoyetina disminuye y, por ende, la cantidad de glóbulos rojos se reduce.
- Cáncer: los cánceres hematológicos están acompañados por una deficiencia en la medula ósea para producir glóbulos rojos.

5.3 CUANTIFICACION MANUAL DE GLÓBULOS BLANCOS O LEUCOCITOS.

Fundamento:

La solución de Turk está compuesta por ácido acético glacial y un colorante básico que es el azul de metileno. El ácido acético actúa como un agente hipotónico que lisa a los hematíes mientras que el azul de metileno tiñe parcialmente a los leucocitos.

Técnica:

- I. Etiquetar un tubo de ensaye de 12x75mm con plumón indeleble como número GB (Glóbulos Blancos).
- II. Se debe limpiar la cámara de Neubauer con una gasa impregnada de alcohol isopropílico al 70% con mucho cuidado para no rayar la cámara.
- III. Limpiar también el portaobjetos que contiene la cámara con mucho cuidado por ambos lados.
- IV. Poner el portaobjetos con mucho cuidado sobre la cuadrícula de la cámara.
- V. Homogeneizar el tubo al vacío con la muestra biológica de 5 a 8 veces.
- VI. Sacar la pipeta de Thoma para leucocitos (pipeta blanca) del hemocitómetro. La pipeta contiene una manguera ajiçonal para poder aspirar la sangre sin sufrir algún tipo de peligro para el analista. En la siguiente imagen se puede observar cómo está compuesta la pipeta de Thoma para los glóbulos blancos.

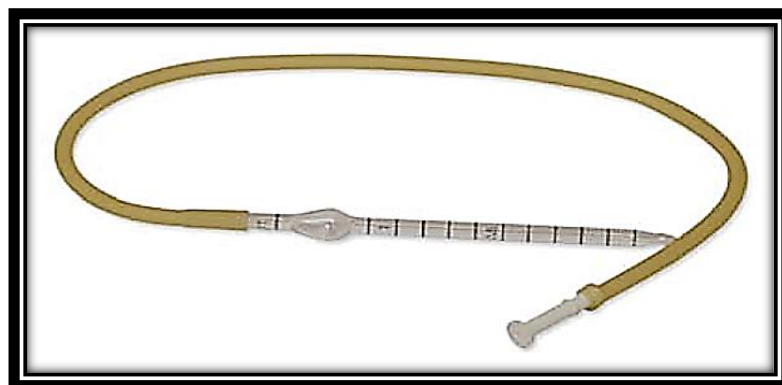


Imagen. 21. Pipeta de Thoma para la cuantificación manual de leucocitos, compuesta por la manguera adicional y boquilla para succión. Extraída de: <https://bit.ly/2wMumjh>.

- VII. La pipeta de Thoma tiene dos marcas, la primera marca dice 0.5 y la segunda marca 11. En la siguiente imagen se observa mejor las marcas de aforo de la pipeta de Thoma para leucocitos.



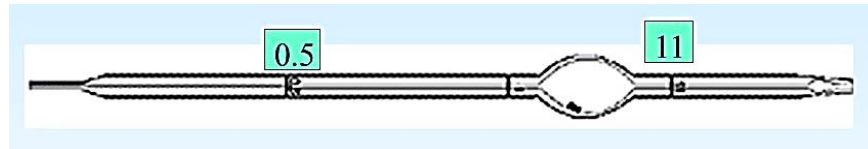


Imagen 22. Pipeta de Thoma para glóbulos blancos. Extraída de: <https://bit.ly/2L7Vg8b>.

- VIII. Se debe aspirar por la boquilla la muestra biológica hasta la marca de 0.5 sin la formación de burbujas.
- IX. Limpiar el exceso de muestra biológica que puede quedar en la parte externa de la pipeta con una gasa limpia.
- X. Una vez listo se debe aspirar nuevamente, pero ahora el diluyente (solución de Turk) hasta la marca de 11. Con esto se logra el aforo y la dilución de la muestra biológica.
- XI. Limpiar el exceso de muestra biológica que puede quedar en la parte externa de la pipeta con una gasa limpia.
- XII. Ladear un poco la pipeta para evitar que se salga la dilución.
- XIII. Sellar cuidadosamente la parte inferior de la pipeta con papel parafilm.
- XIV. Una vez tapada la parte inferior de la pipeta, se debe quitar la manguera accesoria y tapar ahora la parte superior de la misma con papel parafilm.
- XV. Homogeneizar la pipeta suavemente durante 2 minutos. Hasta este momento la dilución es de 1:20.
- XVI. Antes de llenar la cámara de deben desechar las primeras 4 gotas con la finalidad de que sea lo más preciso posible.
- XVII. La cámara se debe llenar por capilaridad, poniendo la pipeta de Thoma sobre el borde de la cámara y el portaobjetos. Dejar caer una gota cuidadosamente. Cuidar que no se derrame el líquido de la dilución. En la siguiente imagen numero de 20 de esta práctica se observa cómo se debe de realizar este paso.
- XVIII. Se debe dejar reposar una vez llena esto con la finalidad de que los leucocitos sedimenten, aproximadamente 3 minutos.
- XIX. Una vez transcurrido el tiempo, se pone la cámara sobre la platina del microscopio óptico.
- XX. Con el objetivo de 10X, enfocar con el macrométrico y micrométrico de ser necesario, el Cuadro Primario Periférico.

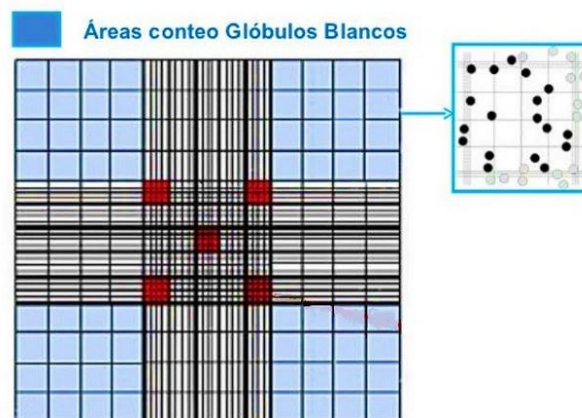


Imagen 23. Conteo de glóbulos blancos. Las cuadrículas periféricas se divide en cuadros secundarios periféricos. Extraída de: <https://bit.ly/2L5I2b>.

Para el conteo de los leucocitos se utilizan los 4 Cuadros Primarios Periféricos (CPP).

**Calculo:**

- Realizar la siguiente fórmula que aplica para el conteo total de leucocitos por microlitro o por mm³.

$$\# \text{ celulas contadas } x \left(\frac{1}{\# \text{ CSC contados } x 0.1} x \text{ factor de dilución} \right)$$

Así, por ejemplo: para una muestra de sangre entera, donde se contaron los 4 cuadros primarios periféricos (CPP) y se contó un total de eritrocitos de 190. Calcular el número de leucocitos por microlitro si la dilución fue de 1:20.

$$190 x \left(\frac{1}{4 x 0.1} x 20 \right) = 9,500 \text{ leucocitos}/\mu\text{L}$$

- La fórmula cambia en función de la dilución que se ocupe y el número de CPP que se cuenten.

Una vez realizados los cálculos, debes de escribirlos en la sección de resultados, indicando el procedimiento para obtener el resultado, así como las unidades correctas en cada caso.

Valores de referencia:

Adultos: 4-10x10³/μL

Significado clínico:

Aumento: el aumento de leucocitos por arriba del valor de referencia se denomina leucocitosis y puede deberse a:

- Infección: los leucocitos son los principales que actúan como mecanismo de defensa, cuando hay algún tipo de infección su número aumenta para combatirla.
- Inflamación: cuando hay un proceso inflamatorio se activa una respuesta leucocitaria que hace que aumenten para que lleguen al sitio de la inflamación.
- Consumo de esteroides: los glucocorticoesteroides estimulan la producción de leucocitos.

Disminución: la disminución de leucocitos por debajo del valor de referencia se denomina leucopenia y puede deberse a:

- Toxicidad por fármacos: algún tipo de quimioterapia hace que el recuento leucocitario disminuya.
- Insuficiencia de la medula ósea: la medula ósea es incapaz de producir a las células sanguíneas, con lo que disminuyen los leucocitos.
- Infecciones graves y crónicas.

5.4 CUANTIFICACION MANUAL DE PLAQUETAS**Fundamento:**

La sangre anticoagulada se debe de diluir con una solución de oxalato de amonio al 1% en frío para que lise a los eritrocitos y leucocitos, dejando solo las plaquetas.



**Técnica:**

- I. Etiquetar un tubo de ensaye de 12x75mm con plumón indeleble como número PLQ (Plaquetas).
- II. Se debe limpiar la cámara de Neubauer con una gasa impregnada de alcohol isopropílico al 70% con mucho cuidado para no rayar la cámara.
- III. Limpiar también el portaobjetos que contiene la cámara con mucho cuidado por ambos lados.
- IV. Poner el portaobjetos con mucho cuidado sobre la cuadrícula de la cámara.
- V. Homogeneizar el tubo al vacío con la muestra biológica de 5 a 8 veces.
- VI. Sacar la pipeta de Thoma para eritrocitos del hemocitómetro. La pipeta contiene una manguera adicional para poder aspirar la sangre sin sufrir algún tipo de peligro para el analista.
- VII. La pipeta de Thoma tiene dos marcas, la primera marca dice 0.5 y la segunda marca 101.
- VIII. Se debe aspirar por la boquilla la muestra biológica hasta la marca de 0.5 sin la formación de burbujas.
- IX. Limpiar el exceso de muestra biológica que puede quedar en la parte externa de la pipeta con una gasa limpia.
- X. Una vez listo se debe aspirar nuevamente, pero ahora el diluyente (solución oxalato de amonio) hasta la marca de 101. Con esto se logra el aforo y la dilución de la muestra biológica.
- XI. Limpiar el exceso de muestra biológica que puede quedar en la parte externa de la pipeta con una gasa limpia.
- XII. Ladear un poco la pipeta para evitar que se salga la dilución.
- XIII. Sellar cuidadosamente la parte inferior de la pipeta con papel parafilm.
- XIV. Una vez tapada la parte inferior de la pipeta, se debe quitar la manguera accesoria y tapar ahora la parte superior de la misma con papel parafilm.
- XV. Homogeneizar la pipeta suavemente durante 2 minutos. Hasta este momento la dilución es de 1:200.
- XVI. Antes de llenar la cámara de deben desechar las primeras 4 gotas con la finalidad de que sea lo más preciso posible.
- XVII. La cámara se debe llenar por capilaridad, poniendo la pipeta de Thoma sobre el borde de la cámara y el portaobjetos. Dejar caer una gota cuidadosamente. Cuidar que no se derrame el líquido de la dilución.
- XVIII. Se debe dejar reposar una vez llena esto con la finalidad de que los eritrocitos sedimenten, aproximadamente 3 minutos.
- XIX. Una vez transcurrido el tiempo, se pone la cámara sobre la platina del microscopio óptico.
- XX. Con el objetivo de 10X, enfocar con el macrométrico y micrométrico de ser necesario, el Cuadro Primario Central (CPC).
- XXI. Mover el revolver para pasar al objetivo de 40X y enfocar con el macrométrico y micrométrico de ser necesario.
- XXII. Una vez enfocado, se deben contar el número de plaquetas en 5 Cuadros Secundarios Centrales (al igual que en el conteo de los eritrocitos). Se recomienda contar los 4 de cada esquina y el del centro.



**Calculo:**

- Realizar la siguiente fórmula que aplica para el conteo total de plaquetas por microlitro o por mm³.

$$\# \text{ celulas contadas } x \left(\frac{1}{5 x 0.004} x \text{ factor de dilución} \right)$$

Así, por ejemplo: para una muestra de sangre entera, donde se contaron los 5 Cuadros Secundarios Centrales (CSC) y se contó un total de plaquetas de 72. Calcular el número de plaquetas por microlitro si la dilución fue de 1:200

$$72 x \left(\frac{1}{5 x 0.004} x 200 \right) = 360,000 \text{ plaquetas}/\mu\text{L}$$

- La fórmula cambia en función de la dilución que se ocupe y el número de CPC que se cuenten.

Valores de referencia:

Adultos: 150,000-450,000/ μL

Significado clínico: las plaquetas son los elementos formes más importantes en la coagulación.

- Cuando están aumentadas puede existir el riesgo de trombosis o formación de pequeños coágulos en la sangre y se denomina trombocitosis. Cuando una persona está coagulada se deben de dar anticoagulantes orales.
- -cuando se encuentran disminuidas las plaquetas, puede existir riesgo de sangrados o hemorragias internas, y se denomina trombocitopenia, cuando una persona está en riesgo de sangrados se deben de hacer transfusiones de plaquetas o también o administrar fármacos.

Actividad: una vez realizados los cálculos, debes de escribirlos en la sección de resultados, indicando el procedimiento para obtener el resultado, así como las unidades correctas en cada caso.

5.5 DETERMINACION DE HEMATOCRITO.

Fundamento:

El hematocrito se define como el volumen que ocupan los eritrocitos en todo el tejido sanguíneo y se expresa como porcentaje.

Técnica:

- I. Se debe homogeneizar la muestra sanguínea de 5 a 8 veces.
- II. Llenar el tubo capilar con sangre por capilaridad. Para esto se debe inclinar un poco el tubo de sangre e introducir el tubo capilar para que se llene hasta dos terceras partes de su capacidad. En la siguiente imagen se observa cómo se debe de llenar el tubo capilar.



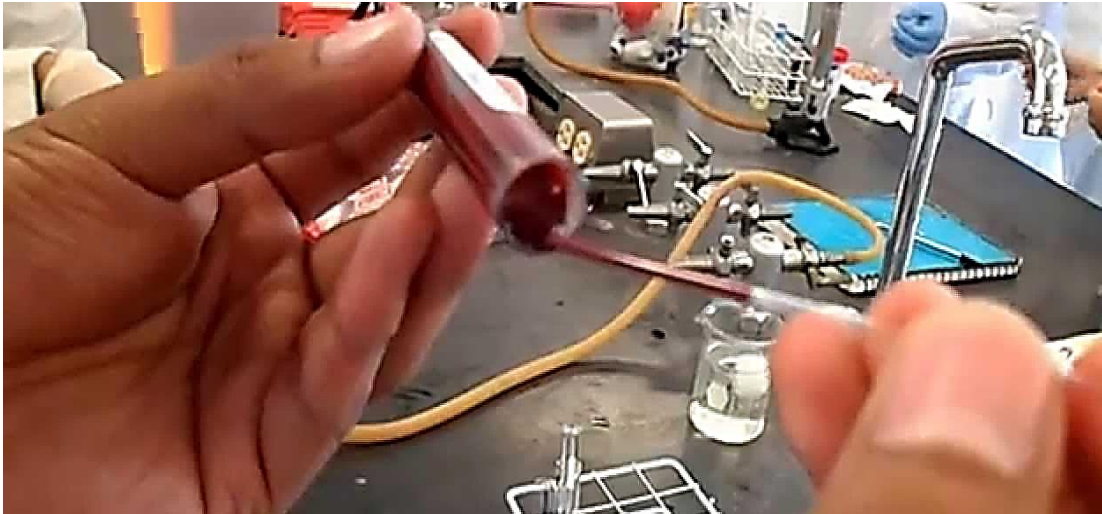


Imagen 24. Llenado correcto del tubo capilar para microhematocrito. Extraída de: <https://bit.ly/2IKXxYG>.

- III. Se debe sellar con calor por la parte contraria de donde se llenó el tubo. Y limpiar con una gasa por fuera del tubo.
- IV. Colocar los tubos capilares en la microcentrifuga y centrifugar a 11,000 rpm durante 5 minutos. En la siguiente imagen se observa cómo deben de colocarse los tubos capilares.



Imagen 25. Microcentrifuga. Los tubos capilares se colocan frente a frente con la finalidad de poder balancear el rotor. Extraída de: <https://bit.ly/2rQtvx>.



- V. Una vez transcurrido el tiempo de centrifugación, leer el paquete eritrocitario de cada tubo capilar en el lector de microhematocrito. En la siguiente imagen se observa cómo se debe de acomodar cada capilar para hacer su lectura de forma correcta.

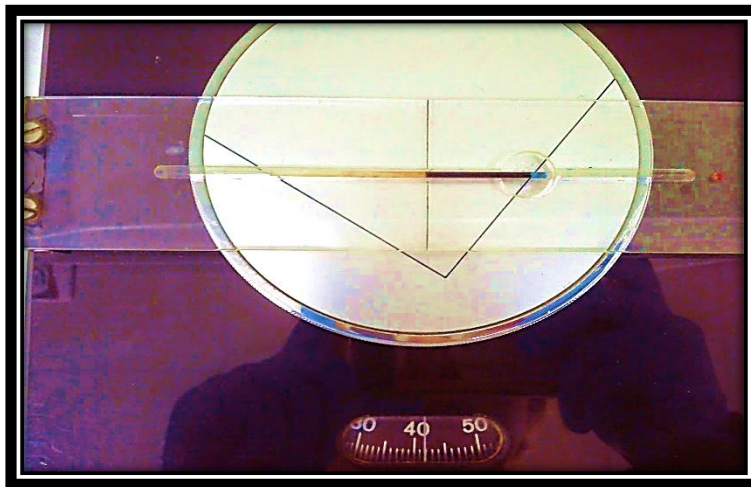


Imagen 26. Medición del paquete globular en el lector de microhematocrito. Extraída de: <https://bit.ly/2L9ucp2>.

Calculo:

- Se debe realizar una división del volumen ocupado por los eritrocitos y el volumen total de sangre, y multiplicarlo por 100 para sacar el porcentaje.

Actividad: Una vez realizados los cálculos, debes de escribirlos en la sección de resultados, indicando el procedimiento para obtener el resultado, así como las unidades correctas en cada caso.

Valores de referencia:

Hombres: 46-56%

Mujeres: 39-50%

Significado clínico:

Aumentado:

- El significado de un hematocrito aumentado engloba todas las enfermedades que hacen un aumento de eritrocitos, como EPOC, policitemia vera, deshidratación; pues el hematocrito va de la mano con la cantidad de glóbulos rojos.

Disminución:

- El significado de un hematocrito disminuido engloba todas las enfermedades que hacen una disminución de eritrocitos, como anemia, cirrosis, hemorragias, enfermedades renales, etc., pues el hematocrito va de la mano con la cantidad de glóbulos rojos.

5.6 DETERMINACIÓN DE HEMOGLOBINA.

Fundamento:

El Fe(II) de todas las formas de hemoglobina, con excepción de la sulfohemoglobina, es oxidado por el ferrocianuro a Fe(III) convirtiéndolas en metahemoglobina que, a la vez, reacciona con cianuro





ionizado (CN) formándose cianometahemoglobina, un derivado muy estable que absorbe a 540 nm. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de hemoglobina total en la muestra (Linear Chemicals, Hemoglobin).

La reacción química se puede visualizar en la siguiente imagen:

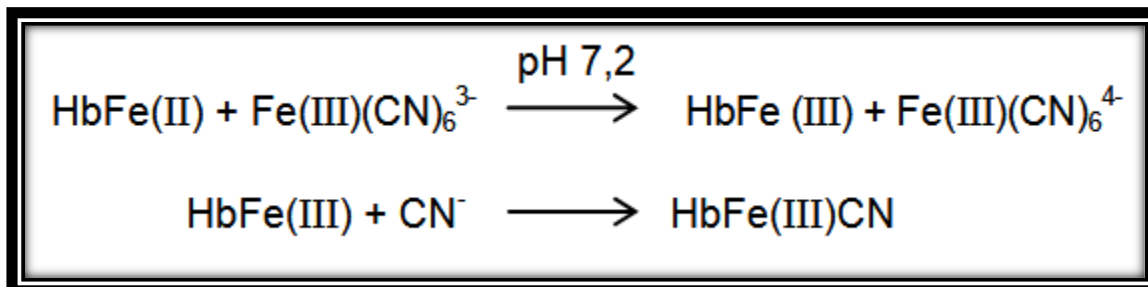


Imagen 27. Método de Drabkin. Extraída de: <https://goo.gl/vQTKF2>.

Técnica:

- I. Rotular tres tubos con forme a la siguiente tabla:

Tabla 7. Preparación de reactivos para la determinación de hemoglobina.

Tubos	Blanco	Muestra	Patrón
Reactivo de trabajo	2.5 mL	2.5mL	2.5 mL
Muestra	-	10 µL	-
Patrón	-	-	10 µL

- II. Mezclar y dejar reposar los tres tubos a temperatura ambiente.
- III. Leer la absorbancia de la muestra y del patrón a 540 nm.

Cálculos:

La determinación de hemoglobina en la muestra se puede hacer por dos fórmulas, dependerá del material que se tenga.

- 1) La primera es midiendo las absorbancias tanto del patrón como de la muestra y aplicando la siguiente formula:

$$\frac{\text{Abs de la muestra}}{\text{Abs del patrón}} \times \text{Concentracion del patrón} = \text{Conc. de Hemoglobina en g/dL}$$

- 2) La segunda es midiendo únicamente la absorbancia de la muestra y aplicando la siguiente formula:

$$\text{Absorbancia de la muestra} \times 36.8 = \text{Conc. de Hemoglobina en g/dL}$$

Se utiliza el factor de 36.8 que resulta de considerar el coeficiente de extinción de la molécula de hemoglobina.

Valores de referencia:

Hombre: 14-18 g/dL

Mujeres: 12-16 g/dL





Significado clínico:

Aumentado:

- Cuando la hemoglobina aumenta, es por enfermedades que hacen un aumento de eritrocitos, como EPOC, policitemia vera, deshidratación; pues la hemoglobina forma parte del eritrocito y va de la mano con la cantidad de glóbulos rojos.

Disminución:

- Cuando la hemoglobina disminuye, es por enfermedades que hacen una disminución de eritrocitos, como anemia, cirrosis, hemorragias, enfermedades renales, etc., pues la hemoglobina forma parte del eritrocito y va de la mano con la cantidad de glóbulos rojos.

Actividad: una vez realizados los cálculos, debes de escribirlos en la sección de resultados, indicando el procedimiento para obtener el resultado, así como las unidades correctas en cada caso.

5.7 CALCULO DE LOS INDICES ERITROCITICOS O HEMETIMÉTRICOS.

Fundamento:

También llamados índices hematimétricos o índices corpusculares. Son una serie de parámetros que expresan diferentes características de los hematíes (Rubio F, et al. 2004). Involucran a valores de hemoglobina, número de eritrocitos y hematocrito.

Cálculos:

Para obtener los índices hematimétricos, se debe de proceder con las siguientes formulas.

- Volumen corpuscular medio (VCM): se denomina al volumen medio de los eritrocitos y se calcula por la siguiente formula:

$$VCM = \frac{\text{Hematocrito (\%)}}{\text{Eritrocitos (10}^6/\mu\text{L)}} \times 10$$

Valores de referencia:

Adultos: 80-100 fL/e

Significado clínico: el VCM sirve para la clasificación de las anemias con base al tamaño de los eritrocitos.

- un valor por debajo de los 80 fL indica una anemia **microcítica** tal como es la anemia ferropénica y talasemia.
- Un valor por arriba de 100 fL indica una anemia **macrocítica** tal como es en la carencia de folatos y vitamina B12, hepatopatías y en la reticulocitosis. Cuando el valor excede los 120 fL indica que es una anemia **megaloblástica**.
- Hemoglobina corpuscular media (HCM): se denomina al contenido medio de hemoglobina que tienen los eritrocitos y se calcula por la siguiente formula:





$$HCM = \frac{\text{Hemoglobina (g/dL)}}{\text{Eritrocitos (10}^6/\mu\text{L)}} \times 10$$

Valores de referencia:

27-31 pg/e

Significado clínico: el HCM sirve para la clasificación de las anemias con base a la falta o exceso de color de los eritrocitos.

- un valor mayor a 31 pg se denomina hipercromía
 - un valor menor a 27 pg se denomina hipocromía.
- Concentración de Hemoglobina corpuscular media (CHCM): se denomina a la concentración media de hemoglobina que tienen los eritrocitos y se calcula por la siguiente formula:

$$CHCM = \frac{\text{Hemoglobina (g/dL)}}{\text{Hematocrito (\%)}} \times 100$$

Valores de referencia:

Adultos: 32-36 g/dL

Significado clínico: esta es la concentración media de hemoglobina que está contenida en 1 decilitro de eritrocitos.

- Un valor elevado se produce en la enfermedad de esferocitosis hereditaria porque hay una disminución en la relación de la superficie de los eritrocitos y su volumen.
- Un valor disminuido se da en la anemia hipocrómica.

Actividad: una vez realizados los cálculos, debes de escribirlos en la sección de resultados, indicando el procedimiento para obtener el resultado, así como las unidades correctas en cada caso.

RESULTADOS

1. Realizar los cálculos empleados para la obtención manual de:

<p>1. Eritrocitos</p> <p>Resultado: _____</p>	<p>2. Leucocitos</p> <p>Resultado: _____</p>
--	---





<p>3. Plaquetas</p> <p>Resultado: _____</p>	<p>4. Determinación de hematocrito</p> <p>Resultado: _____</p>
<p>5. Determinación de hemoglobina</p> <p>Resultado: _____</p>	<p>6. Volumen corpuscular medio</p> <p>Resultado: _____</p>
<p>7. Hemoglobina corpuscular medio</p> <p>Resultado: _____</p>	<p>8. Concentración de hemoglobina corpuscular medio</p> <p>Resultado: _____</p>

2. Una vez obtenidos los resultados de los cálculos, llenar la siguiente tabla:

Nombre del paciente: _____

Edad: _____ Sexo: _____ Fecha: _____





Tabla 8. Mediciones cuantitativas de la Citometría hemática

Determinación	Resultado obtenido	Unidades	Valor de referencia
Eritrocitos			
Leucocitos			
Plaquetas			
VCM			
HCM			
CHCM			
Hemoglobina			
Hematocrito			

BIBLIOGRAFÍA.

- Celeromics. Conteo celular con hematocitómetro. Extraída el día 29 de marzo de 2018 de: <https://goo.gl/KvOsm>
- Cromatest. Hemoglobina. Extraída el día 29 de marzo de 2018 de: <https://goo.gl/vQTKf2>
- García B, et al., (2015). Técnicas de análisis hematológico. Madrid, España: Paraninfo, S.A.
- Jaime J, Gómez., (2012). Hematología. La sangre y sus enfermedades. México: McGraw-Hill.
- McKenzie S. (2005). Hematología clínica. México: Manual moderno.
- Pagana K, Pagana T. (2014). Laboratorio clínico, indicaciones e interpretación de resultados. México: El manual moderno.
- Ruiz G. (2009). Fundamentos de Hematología. México: Médica Panamericana.

MANEJO DE RESIDUOS.

Papel, servitoallas, torundas con poca sangre o con alcohol (ambos no empapados), guantes, cubrebocas, plástico.

Desechar en la basura municipal.

Punzocortantes.

Contenedor rígido rojo.

Tubos vacutainer con sangre.

Bolsas rojas de polipropileno.

Torundas con mucha sangre o escurriendo de sangre.

Bolsas rojas de polipropileno

Remanentes de reacción.

Palanganas con solución de hipoclorito de sodio al 5%





Práctica No. 6

Prueba de la antiglobulina humana (prueba de Coombs).**INTRODUCCIÓN.**

Las inmunoglobulinas, también llamados anticuerpos, se encuentran en el plasma humano circulando y tienen la capacidad de reconocer moléculas extrañas en el organismo. Los anticuerpos son glicoproteínas que reaccionan de forma específica contra un antígeno (Rubio F, et al., 2016).

Si analizamos el suero de una persona normal, encontramos anticuerpos de grupo sanguíneo ABO, en tanto que el suero de cordón umbilical o del recién nacido revela concentraciones mínimas o nulas de anticuerpos de este tipo. No obstante, si examinamos el suero del lactante 12 a 20 semanas más tarde, observamos títulos moderados de anticuerpos. Estos anticuerpos aparecen sin inmunización obvia del bebe con antígenos del grupo sanguíneo A o B. Por lo tanto, se consideran anticuerpos naturales; es decir, que surgen en ausencia de un estímulo antigénico conocido. Ahora se sabe que los virus, bacterias y muchos alimentos poseen antígenos AB muy similares a los de los grupos sanguíneos humanos. Entonces, estos anticuerpos "naturales" se deben a antígenos que entran en el organismo y promueven la respuesta adecuada, casi siempre de tipo IgM. Los anticuerpos inmunes de grupo sanguíneo suelen ser IgG como consecuencia de una transfusión de sangre o en caso de embarazo, por el paso de sangre fetal a la circulación materna.

La reacción antígeno-anticuerpo es la piedra angular de la respuesta inmune y se pone de manifiesto *in vitro* por la formación de un precipitado o aglutinación de partículas (eritrocitos). El reconocimiento antígeno-anticuerpo es una reacción de complementariedad, por lo que se efectúa a través de múltiples enlaces no covalentes, la reacción se caracteriza por ser **específica** (es la capacidad de los anticuerpos para distinguir entre dos antígenos con estructura similar); **rápida** (ocurre en segundos); **reversible y espontánea** (no requiere energía adicional para efectuarse) (Bautista J, 2004).

Dado que la reacción se debe a fuerzas no covalentes, es reversible y, en consecuencia, se ve afectada por factores como la temperatura de reacción, proporción antígeno-anticuerpo, el pH y la fuerza iónica. En pruebas de laboratorio que usan la aglutinación como punto final, la alteración de las condiciones físicas del sistema puede incrementar o reducir la sensibilidad de la prueba (Bautista J, 2004). La reacción de aglutinación, es muy socorrida por los bancos de sangre para diferentes metodologías, desde la tipificación de grupos sanguíneos hasta verificar que los productos sanguíneos sean compatibles para la transfusión. Normalmente la reacción esta mediada por anticuerpos de clase IgM, aunque existen reacciones en donde también participan anticuerpos clase IgG.

Algunas moléculas pequeñas como la IgG pueden sensibilizar los eritrocitos y no producir aglutinación directa. En 1945, Coombs y sus colaboradores describieron una prueba para detectar estos anticuerpos no aglutinantes. Posteriormente, esta misma prueba se utilizó para demostrar la unión del complemento a los eritrocitos. Todas las moléculas de anticuerpos son globulinas. Estas globulinas, son inyectadas, como ya se mencionó, en animales para que produzcan anticuerpos dirigidos contra esas moléculas extrañas. El suero del animal, después de un largo proceso de purificación, tendrá la capacidad de reaccionar específicamente contra globulinas humanas, por lo tanto, se denomina **suero de antiglobulina humana (AGH)**. Las moléculas de AGH forman un puente entre los eritrocitos adyacentes cubiertos con anticuerpos, para producir aglutinación visible. Los eritrocitos que no tienen ninguna globulina unida no serán aglutinados. La fuerza de la aglutinación observada es generalmente proporcional a la cantidad de globulina unida. El suero AGH reaccionara





con los anticuerpos y fracciones del complemento de origen humano, que están unidos a los eritrocitos, por lo tanto, los eritrocitos deben ser lavados para eliminar las proteínas no unidas, antes de la adición de AGH (Arbeláez C, 2009). Existen dos pruebas en las que se utiliza el suero de antiglobulina humana: la prueba de antiglobulina directa e indirecta.

OBJETIVO.

El alumno comprenderá los dos tipos de pruebas de antiglobulina humana que existen, mediante la explicación del fundamento de cada una, para que se puedan aplicar en su trabajo profesional en el banco de sangre.

ACTIVIDAD PREVIA.

Para la comprensión de esta práctica deberás investigar en cualquier libro de inmunología o de hematología los siguientes conceptos, en relación a los grupos sanguíneos:

- ¿Qué es un anticuerpo y un antígeno?
- ¿Qué es una reacción de aglutinación?
- ¿Cómo puede visualizarse una reacción de aglutinación?
-

MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS.

MATERIAL.

Gradilla para tubos de ensaye.
Tubos de ensaye de 12x75 mm.
Tubos vacutainer de tapón rojo o lila.
Material necesario para realizar la venopunción por sistema al vacío.
Palanganas para desechos.
Pipetas Pasteur.
Marcador indeleble.

EQUIPO.

Centrifuga clínica.

REACTIVOS.

Suero de Coombs.
Sol. Hipoclorito de sodio al 5%
Reactivo 1: eritrocitos sensibilizados.
Reactivo 2: eritrocitos no sensibilizados.
Solución Salina Fisiológica.

CONTENIDO.

6.1 PRUEBA DE LA ANTIGLOBULINA HUMANA INDIRECTA.

Fundamento:

En la prueba de la antiglobulina indirecta o también llamado, **Coombs indirecto**, el suero o el plasma se incuban con eritrocitos, luego se hace un lavado para remover las globulinas no unidas. La aglutinación que ocurre se agrega el suero de Coombs, indica que el anticuerpo se ha unido a un antígeno específico presente sobre el eritrocito. También esta prueba se utiliza para realizar la prueba cruzada de compatibilidad, en donde el suero y los antígenos eritrocitarios son desconocidos (Arbeláez C, 2009).



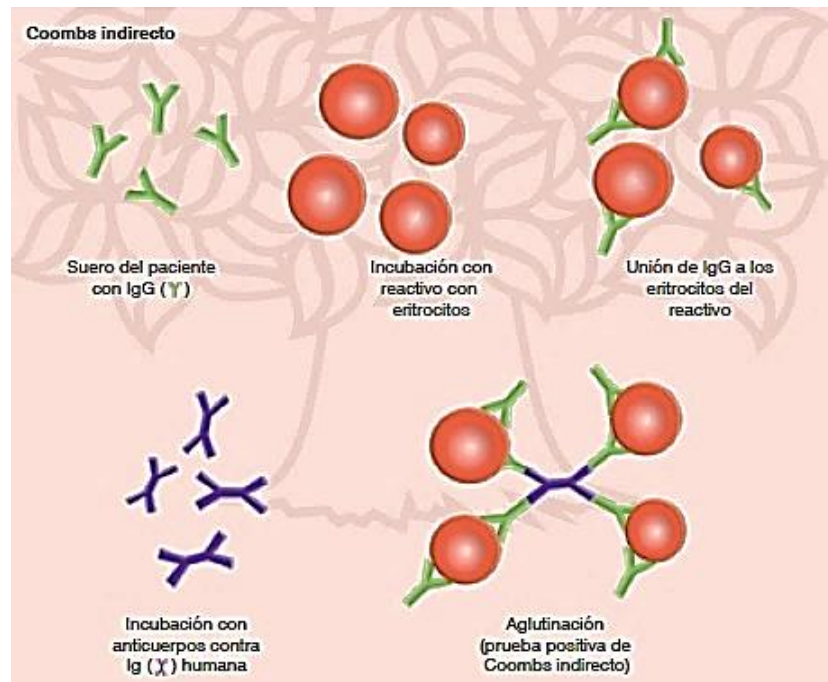


Imagen 28. Prueba de la antiglobulina indirecta. **El Coombs indirecto** se usa para detectar si hay anticuerpos IgG en el suero del paciente contra los eritrocitos. El suero del paciente se incuba con el reactivo de eritrocitos. Posteriormente se agrega el suero de Coombs (que contiene anticuerpos anti-IgG). Si hay autoanticuerpos o aloanticuerpos contra los eritrocitos, se presenta aglutinación y la prueba es positiva (Arbeláez C, 2009).

Técnica:

- I. Realizar una venopunción por la técnica de sistema al vacío, para obtener un tubo de sangre completa anticoagulada con EDTA (tubo de tapón lila), de una persona con grupo sanguíneo y factor Rh, conocidos como **O positivo**
- II. Centrifugar la muestra sanguínea a 3400 rpm durante 5 minutos.
- III. Con marcador indeleble, identificar 1 tubo de 12x75mm como "O+"
- IV. A partir del botón de eritrocitos del grupo sanguíneo O+, usando la pipeta Pasteur, tomar un poco de ellos y colocarlos en el tubo de ensaye previamente identificado.
- V. Hacer un lavado de esos eritrocitos, para esto. llenar el tubo hasta $\frac{3}{4}$ partes de su capacidad utilizando la piseta con solución salina fisiológica.
- VI. Centrifugar 3400 rpm durante 90 segundos.
- VII. Decantar la solución salina fisiológica en una palangana que tiene una solución de hipoclorito de sodio, teniendo cuidado de no dejar caer el botón de eritrocitos.
- VIII. Repetir los pasos V, VI y VII. la finalidad de lavar los eritrocitos es para dejar expuesta su membrana lo mejor que se pueda, eliminando así proteínas, plasma o ciertos carbohidratos que puedan interferir a la hora de hacer la prueba.
- IX. Añadir 1 gota del botón eritrocitario lavado y añadir 2 gotas del antisuero anti-D y dejar incubar por 30 minutos a 37°C. Esto se realiza con la finalidad de obtener eritrocitos sensibilizados. Es decir, que esos eritrocitos ya tendrán unidos a su membrana anticuerpos IgG.



- X. Una vez sensibilizados, se procede a realizar un lavado de las células. repetir los pasos V, VI y VII.
- XI. A partir de los eritrocitos sensibilizados lavados se realizará una suspensión del 2-5% con solución salina fisiológica. Para esto identificar un tubo de ensaye de 12x75 mm como "SES" (suspensión de eritrocitos sensibilizados).
- XII. Etiquetar un tubo de ensaye de 12x75 mm como "Coombs" y agregar una gota de la suspensión de eritrocitos sensibilizados, con ayuda de la pipeta Pasteur.
- XIII. Agregar dos gotas de suero de Coombs.
- XIV. Mezclar suavemente y centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos.
- XV. Se debe resuspender el botón eritrocitario que queda en el fondo de cada tubo, para esto se debe hacer una agitación suave y cuidadosa a cada tubo, con la finalidad de leer la presencia o ausencia de aglutinación en un fondo bien iluminado.
- XVI. La intensidad de la aglutinación debe interpretarse de acuerdo a la siguiente tabla, para poder interpretar los resultados.

Tabla 9. Interpretación del grado de aglutinación.

Intensidad de la aglutinación	Puntaje
Agregado grande	4+
Agregados grandes y se observan agregados más pequeños	3+
Agregados pequeños	2+
Los agregados casi no se observan pero existen muy pocos	1+
No hay agregados (sin aglutinación)	Negativo

6.2 PRUEBA DE LA ANTIGLOBULINA HUMANA DIRECTA.

Fundamento:

La prueba de antiglobulina directa o también llamado, **Coombs directo**, se utiliza para demostrar el recubrimiento *in vivo* de eritrocitos con anticuerpos o con el complemento, principalmente IgG y C3d, respectivamente. Los eritrocitos lavados de un paciente o de un donante se prueban directamente con los reactivos de antiglobulina humana. La prueba se utiliza en investigación de enfermedad hemolítica del recién nacido y del feto, anemia hemolítica autoinmune, hemólisis inducida por drogas y en el estudio de las reacciones contra eritrocitos transfundidos recientemente (Arbeláez C, 2009). En la siguiente imagen se esquematiza este procedimiento:



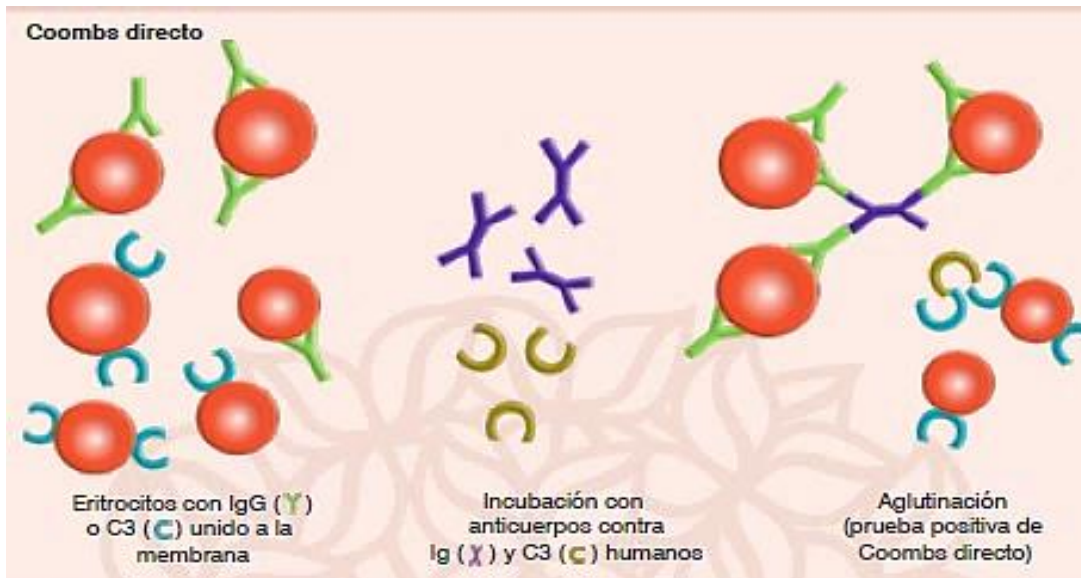


Imagen 29. Prueba de la antiglobulina directa. **El Coombs directo** se usa para determinar si hay anticuerpos (IgG) o complemento (C3) unidos a la membrana de los eritrocitos. Los eritrocitos del paciente son incubados con anticuerpos anti-IgG y anti-C3. Si hay presencia de anticuerpos IgG o complemento C3 en la membrana de los eritrocitos, se presenta aglutinación y la prueba es positiva.

Técnica:

- I. Con marcador indeleble, identificar 1 tubo de 12x75mm “ES” (Eritrocitos Sensibilizados).
- II. Con marcador indeleble, identificar 1 tubo de 12x75mm “ENS” (Eritrocitos No Sensibilizados).
- III. Con ayuda de la pipeta Pasteur, agregar al tubo “ES” una gota del reactivo número 1.
- IV. Con ayuda de la pipeta Pasteur, agregar al tubo “ENS” una gota del reactivo número 2.
- V. A cada tubo anterior, agregar dos gotas del suero de Coombs.
- VI. Mezclar suavemente y centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos.
- VII. Se debe resuspender el botón eritrocitario que queda en el fondo de cada tubo, para esto se debe hacer una agitación suave y cuidadosa a cada tubo, con la finalidad de leer la presencia o ausencia de aglutinación en un fondo bien iluminado.
- VIII. La intensidad de la aglutinación debe interpretarse de acuerdo a la tabla número 9.

RESULTADOS.

Tabla 10. Resultado de la aglutinación en el Coombs indirecto e indirecto.

Aglutinación y puntaje	
Coombs indirecto	
Coombs directo	



BIBLIOGRAFIA.

- Arbeláez C. (2009). Fundamentos de genética e inmunología para bancos de sangre y medicina transfusional. Medicina & Laboratorio. 15(1).
- Bautista J. (2004). Factores que intervienen en la reacción antígeno-anticuerpo. Gaceta medica de México. 140(3).

MANEJO DE RESIDUOS.

Tubos vacutainer con sangre.

Bolsas rojas de polipropileno.

Tubos de vidrio con coágulos sanguíneos o con restos de sangre.

Palanganas con solución de hipoclorito de sodio al 1%





Práctica No. 7

Tipificación de grupos sanguíneos ABO y Factor Rh.**INTRODUCCIÓN.**

Las células humanas tienen 46 cromosomas que existen como 23 pares (la mitad de cada par se hereda de cada padre). Veintidós de los pares son semejantes en hombres y mujeres, denominados autosomas. Los genes de los grupos sanguíneos están localizados en los 22 pares de autosomas. rasgos son la expresión observada de los genes. Un rasgo que se observa cuando el alelo determinante está presente se llama dominante. Cuando diferentes alelos en cromosomas homólogos producen un rasgo observable, se utiliza el término codominante, los antígenos de los grupos sanguíneos se expresan como rasgos codominantes. Por ejemplo, si una persona hereda el gen E de un padre y el gen e (antígenos E y e son del sistema Rh) del otro padre, entonces ambos antígenos E y e se expresan sobre la superficie de los eritrocitos (Arbeláez C, 2009).

El sistema ABO, inicialmente descrito por Karl Landsteiner en 1900, sigue siendo el sistema de grupo sanguíneo más importante en la medicina transfusional y en el trasplante de órganos. En la sangre, los antígenos ABO se encuentran en los glóbulos rojos, las plaquetas y varias proteínas circulantes. Como todos los antígenos de los histo-grupos sanguíneos, los antígenos ABO también están presentes en varios tejidos, incluyendo el endotelio, riñón, corazón, intestino, páncreas y pulmón. La transfusión de sangre ABO incompatible puede asociarse con una hemólisis intravascular aguda, fallo renal y muerte. Del mismo modo, el trasplante de órganos ABO incompatibles es asociado con un rechazo humoral. Debido a las consecuencias clínicas fatales asociadas con las incompatibilidades ABO, la tipificación sigue siendo la base de la evaluación pre-transfusional y un componente importante de la tipificación antes del trasplante. El sistema ABO consta de cuatro fenotipos mayores: A, B, O, y AB. Estos cuatro fenotipos se determinan mediante la presencia o ausencia de dos antígenos (A y B) en los glóbulos rojos (Aronson C, et al., 2012).

El sistema ABO también se caracteriza por la presencia o ausencia de anticuerpos naturales, que reciben el nombre de isoaglutininas, dirigidas hacia los antígenos A y/o B ausentes. Existe una relación recíproca e inversa entre la presencia de antígenos A y/o B en los glóbulos rojos y la presencia de anti-A, anti-B o ambos en el suero. Por ejemplo, los individuos con grupo O, que no tienen antígenos A y B en los glóbulos rojos, poseen naturalmente tanto anti-A como anti-B. Se cree que las fuentes inmunizantes para que ocurran dichos anticuerpos naturales, son las bacterias intestinales como las *Enterobacterias*, que han demostrado poseer estructuras parecidas al sistema ABO en sus cubiertas lipopolisacáridicas (Aronson C, et al., 2012).

El factor Rh es un mucopolisacárido, dotado de fuertes propiedades antigénicas y está presente en la superficie del hematíe. Se llama Rh por las dos primeras letras del nombre específico de la especie *Macacus Rhesus*. En los eritrocitos de estos monos, fue descubierto este sistema sanguíneo (Botella J, Clavero J. 1993).

Aunque se han descrito más de 50 antígenos vinculados con el sistema Rh, los antígenos que destacan por su apreciable significación son cinco: D, C, E, c y e. El antígeno D fue el primero en descubrirse y es el más inmunógeno de los antígenos de este sistema. Su importancia es tal, que en la práctica la denominación "Rh positivo" es equivalente a "D-positivo", como si fuera el único antígeno significativo en todo el sistema (Jaime J, Gómez D. 2012).





	Grupo A	Grupo B	Grupo AB	Grupo O
Eritrocito				
Anticuerpos en plasma sanguíneo	 Anti-B	 Anti-A	Ninguno	 Anti-A y Anti-B
Antígenos en los eritrocitos	 Antígeno A	 Antígeno B	 Antígenos A y B	Ninguno

FACTOR RH POSITIVO



Antígeno

Se encuentra en el 85% de las personas

FACTOR RH NEGATIVO



Se encuentra en el 15% de las personas

Imagen 30. Diferentes grupos sanguíneos del sistema ABO y Rh. Extraídas de: <https://bit.ly/2xh5HzC> y <https://bit.ly/2MtSdH6>, respectivamente.

La **NOM-253-SSA1-2012**, establece que la clasificación del grupo ABO se deberá realizar en todos los donantes y receptores, mediante las siguientes pruebas:

- a) Pruebas de aglutinación.
 - **Prueba directa.**
 - **Prueba inversa.**
- b) Método de genotipificación sanguínea.



También la norma establece que la identificación del antígeno D se deberá realizar en los donantes y en los receptores, mediante las siguientes pruebas:

- Prueba de aglutinación directa.**
- Prueba de antiglobulina humana** (solo cuando en la prueba anterior resultase negativa)

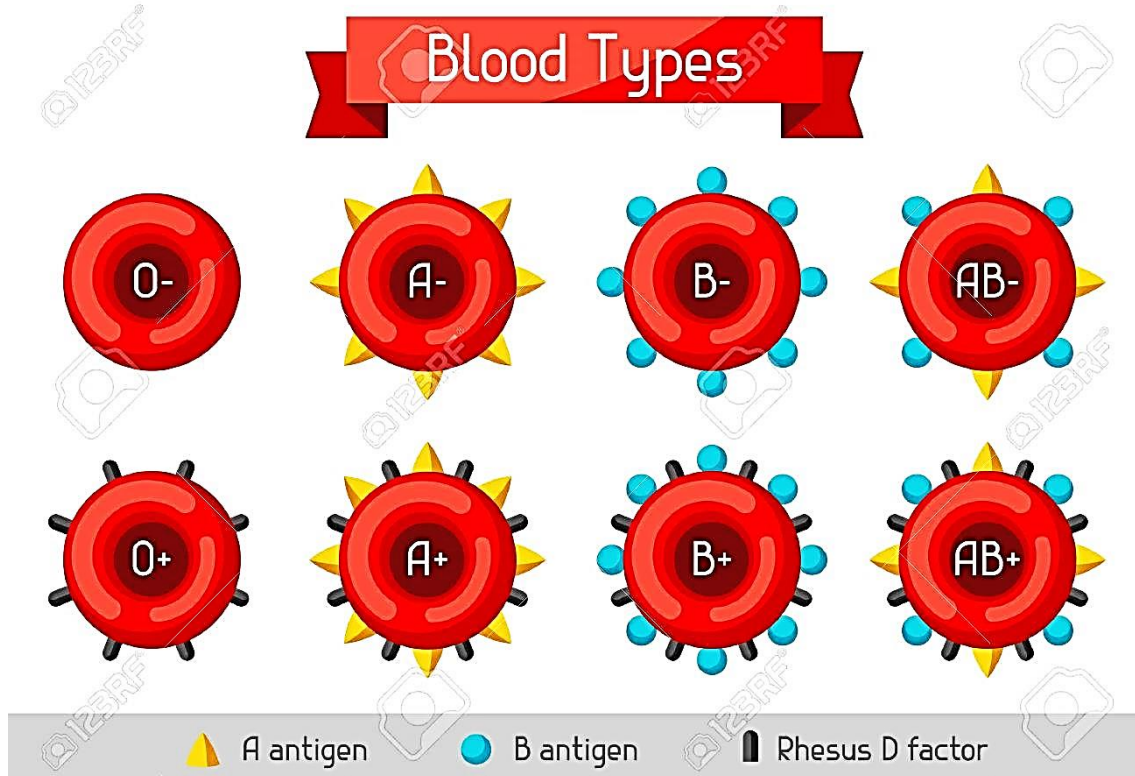


Imagen 31. Diferentes grupos sanguíneos del sistema ABO. Los grupos sanguíneos ABO negativos, no poseen el antígeno D o Rhesus, en contraste con los grupos sanguíneos ABO positivos que sí lo poseen. Cada antígeno está marcado por una forma diferente: el antígeno A (A antigen) es un triángulo en forma de espina unida al hematíe, el antígeno B (B antigen) es un círculo unido al hematíe, finalmente el antígeno D (Rhesus D factor), está representado por un cilindro pequeño.

Extraída de: <https://bit.ly/2JfSksM>.

OBJETIVO.

El alumno realizará la reacción antígeno-anticuerpo, mediante la prueba de aglutinación en tubo, esto con la finalidad de realizar la detección de grupos sanguíneos ABO y del factor Rh.

MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS.

MATERIAL.

Gradilla para tubos de ensaye.
Tubos de ensaye de 12x75 mm.
Tubos vacutainer de tapón lila o rojo.

Material necesario para realizar una venopunción por sistema en vacío.
Pipetas Pasteur.
Marcador indeleble.





REACTIVOS.

Suero hemotipificador anti-A.
 Suero hemotipificador anti-AB.
 Suero hemotipificador anti-B.
 Células tipificadas del grupo sanguíneo A y B.
 Hipoclorito de sodio al 5%
 Solución Salina Fisiológica.

EQUIPO.

Centrífuga clínica.

CONTENIDO.

7.1 OBTENCIÓN DE LA MUESTRA BIOLÓGICA POR METODO AL VACÍO.

Técnica:

- I. Realizar una venopunción por la técnica de sistema al vacío, para obtener un tubo de sangre completa anticoagulada con EDTA (tubo de tapón lila) o un tubo de sangre completa coagulada (tapón rojo). En el caso de usar tubo al vacío de color rojo, se debe dejar coagular la muestra durante al menos 20 minutos antes de centrifugar.
- II. Centrifugar la muestra a 3400 rpm durante 5 minutos.
- III. Con marcador indeleble, identificar 2 tubos de 12x75mm como plasma/suero y eritrocitos.
- IV. Con ayuda de la pipeta Pasteur, separar el plasma/suero del tubo ya centrifugado en el tubo previamente identificado como plasma/suero.
- V. A partir del pellet, usando la pipeta Pasteur, tomar un poco de eritrocitos y colocarlos en el tubo previamente identificado como eritrocitos.
- VI. Identificar un nuevo tubo como "SE" (suspensión de eritrocitos del 2-5%).
- VII. Preparar una suspensión de eritrocitos del 2-5% con 2 mL de SSF como diluyente.

7.2 TIPIFICACIÓN DIRECTA DE GRUPO SANGUÍNEO SISTEMA ABO EN TUBO.

Fundamento:

Por esta técnica se detectan antígenos que posee el eritrocito en su membrana, por lo consiguiente, de estar presente el antígeno A al añadir suero hemotipificador anti-A se hará visible la reacción de aglutinación, dando como resultado grupo sanguíneo "A". Si se añade el suero hemotipificador anti-B y está presente el antígeno B, se hará una reacción de aglutinación, dando como resultado grupo sanguíneo "B". Si el eritrocito contiene tanto antígeno A como antígeno B y al añadir el suero hemotipificador anti-AB aglutina, será grupo sanguíneo "AB"; en tanto, si no aglutina en ninguno de los tubos, será grupo sanguíneo "O", debido a que en este tipo de sangre el eritrocito no contiene ningún antígeno.

Técnica:

- I. Identificar, con marcador indeleble, cuatro tubos de ensaye de 12x75 mm como A, B, y AB y autotestigo.
- II. Añadir una gota del suero hemotipificador anti-A al tubo identificado como "A".
- III. Añadir una gota del suero hemotipificador anti-B al tubo identificado como "B".
- IV. Añadir una gota del suero hemotipificador anti-AB al tubo identificado como "AB".

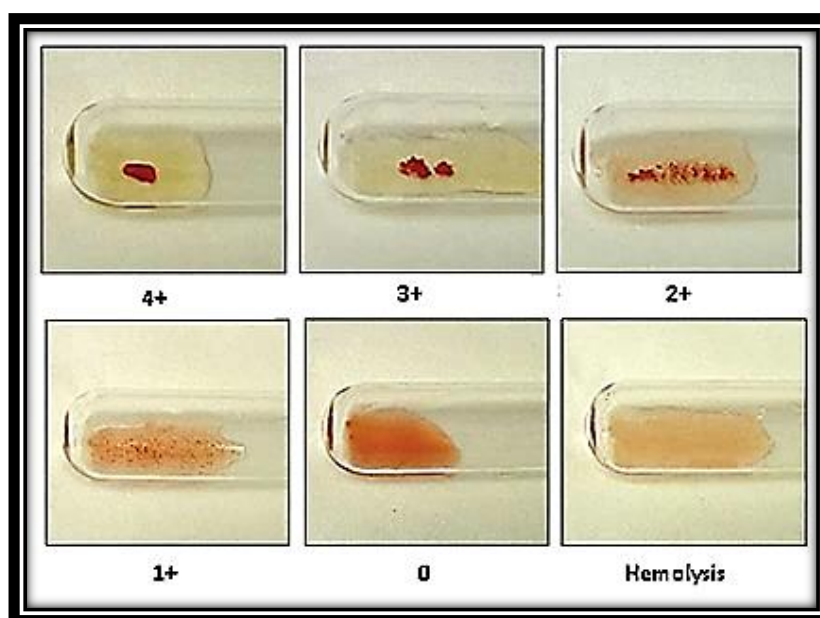


- V. Una vez añadidas las gotas del antisuero hemotipificador, agregar a cada uno de los tres tubos, una gota de la suspensión de eritrocitos del 2-5% del paciente.
- VI. Para preparar el autotestigo se deberá añadir dos gotas de la suspensión de eritrocitos del 2-5% del paciente más dos gotas de suero o plasma del mismo paciente, con la finalidad de descartar **autoaglutinación**.
- VII. Mezclar suavemente y centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos.
- VIII. Se debe resuspender el botón eritrocitario que queda en el fondo de cada tubo, para esto se debe hacer una agitación suave y cuidadosa a cada tubo, con la finalidad de leer la presencia o ausencia de aglutinación en un fondo bien iluminado.
- IX. El tubo autotestigo puede presentar aglutinación en caso de que el paciente tenga en su suero autoanticuerpos.
- X. La intensidad de la aglutinación debe interpretarse de acuerdo a la siguiente tabla.

Tabla 11. Interpretación del grado de aglutinación.

Intensidad de la aglutinación	Puntaje
Agregado grande	4+
Agregados grandes y se observan agregados más pequeños	3+
Agregados pequeños	2+
Los agregados casi no se observan pero existen muy pocos	1+
No hay agregados (sin aglutinación)	Negativo

En la siguiente imagen puede darse una idea de cuantas cruces debe colocar para el puntaje en la aglutinación en un tubo de ensaye.

Imagen 32. Intensidad de aglutinación con cruces. Extraída de: <https://bit.ly/2sB09io>.

Actividad: una vez terminada la experiencia, contestar la tabla número 12 en el apartado de **resultados** de esta práctica.



7.3 TIPIFICACIÓN INVERSA DE GRUPO SANGUÍNEO SISTEMA ABO EN TUBO.

Fundamento:

En la tipificación inversa o de fase sérica, se determinan **anticuerpos** presentes en el suero del paciente y pueden ser anticuerpos anti-A o anticuerpos anti-B. Estos anticuerpos también son llamados **isoanticuerpos** que son típicamente IgG e IgM. Estos isoanticuerpos aglutinan en presencia de células conocidas específicas para cada uno.

La presencia de la aglutinación evidencia la presencia de isoanticuerpos anti-A si es que aglutina con los eritrocitos conocidos tipo A, o isoanticuerpos anti-B si aglutina con los eritrocitos conocidos tipo B. El paciente será grupo sanguíneo "A" solo si aglutina con células conocidas tipo B; recordando que el grupo sanguíneo "A" crea isoanticuerpos anti-B. El paciente será grupo sanguíneo "B" solo si aglutina con células conocidas tipo A; recordando que el grupo sanguíneo "B" crea isoanticuerpos anti-A. El paciente será grupo sanguíneo "O" solo si aglutina con células conocidas tipo A y B; recordando que el grupo sanguíneo "o" crea isoanticuerpos anti-A y anti-B. Finalmente, el paciente será grupo sanguíneo "AB" si NO aglutina con células conocidas tipo A ni B; recordando que el grupo sanguíneo "AB" NO crea isoanticuerpos ni anti-A ni anti-B.

Técnica:

- I. Preparación de células conocidas, para esto:
- II. Extraer sangre por el método al vacío en un tubo de tapón lila de personas con grupo sanguíneo sistema ABO conocido como "A", "B", "AB" y "O".
- III. Centrifugar la muestra a 3500 rpm durante 5 minutos para separar el plasma y el pellet.
- IV. Etiquetar 4 tubos de ensaye de 12x75 mm como "A", "B", "AB" y "O".
- V. Realizar una suspensión de eritrocitos de 2-5% de cada uno de los grupos sanguíneos del sistema ABO anteriores.
- VI. Con marcador indeleble etiquetar 3 tubos de ensaye de 12x75 mm, como 1, 2, 3 y 4.
- VII. Agregar a cada uno de los 4 tubos 1 gota del suero del paciente.
- VIII. Al tubo 1, añadir 1 gota de la suspensión de eritrocitos del 2-5 % conocidos como "A".
- IX. Al tubo 2, añadir 1 gota de la suspensión de eritrocitos del 2-5 % conocidos como "B".
- X. Al tubo 2, añadir 1 gota de la suspensión de eritrocitos del 2-5 % conocidos como "AB".
- XI. Al tubo 3, añadir 1 gota de la suspensión de eritrocitos del 2-5 % conocidos como "O".
- XII. Tapar con papel parafilm
- XIII. Mezclar suavemente y centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos.
- XIV. Se debe resuspender el botón eritrocitario que queda en el fondo de cada tubo, para esto se debe hacer una agitación suave y cuidadosa a cada tubo, con la finalidad de leer la presencia o ausencia de aglutinación. Cuando la aglutinación está presente, se evidencia la presencia del isoanticuerpo correspondiente en un fondo bien iluminado y marcar la intensidad de acuerdo a la tabla número 11.

Actividad: Una vez terminada la experiencia, contestar la tabla número 13 en el apartado de **resultados** de esta práctica.





7.4 DETERMINACION DEL FACTOR RH (ANTÍGENO D) EN TUBO.

Fundamento:

Los eritrocitos contienen diferentes tipos de antígenos del grupo sanguíneo sistema ABO. Al añadir el suero hemotipificador anti-D, que contiene anticuerpos específicos contra el antígeno D, aglutinará si se encuentran antígenos D en el eritrocito. Evidenciando la reacción antígeno-anticuerpo, y se informa como Rh positivo. En caso contrario se reporta como Rh negativo y se debe hacer la confirmación del Rh negativo (práctica No. 8).

Técnica:

- I. Marcar con plumón indeleble un tubo de ensaye de 12x75 mm, como Rh.
- II. Si se tiene el control negativo para el anti-D, se debe etiquetar un tubo como "control negativo".
- III. Añadir al cada tubo, una gota de suspensión de eritrocitos del 2-5% del paciente.
- IV. Enseguida añadir una gota del antisuero hemotipificador anti-D.
- V. Añadir dos gotas de control negativo anti-D al tubo correspondiente.
- VI. Tapar con papel parafilm y mezclar.
- VII. Centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos.
- VIII. Se debe resuspender el botón eritrocitario que queda en el fondo de cada tubo, para esto se debe hacer una agitación suave y cuidadosa a cada tubo, con la finalidad de leer la presencia o ausencia de aglutinación. Cuando la aglutinación está presente, se evidencia la presencia del antígeno correspondiente en un fondo bien iluminado.
- IX. La intensidad de la aglutinación debe interpretarse de acuerdo a la tabla número 8 de este manual.

Actividad: Una vez terminada la experiencia, contestar la tabla número 14 en el apartado de **resultados** de esta práctica. Además de anotar en la tabla numero 15 el resultado de la tipificación sanguínea del sistema ABO.

RESULTADOS.

Nombre del paciente: _____

Edad: _____ Sexo: _____ Fecha: _____

Tabla 12. Tipificación directa del grupo sanguíneo sistema ABO en tubo.

Suero hemotipificador	Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Autocontrol
Aglutinación, puntaje e interpretación				





Tabla 13. Tipificación inversa del grupo sanguíneo sistema ABO en tubo.

Suspensión de eritrocitos al 3%	Eritrocitos conocidos A	Eritrocitos conocidos B	Eritrocitos conocidos O
Aglutinación y puntaje			

Tabla 14. Tipificación del grupo sanguíneo factor Rh en tubo.

Suero hemotipificador	Anti-D
Aglutinación y puntaje	

Tabla 15. Resultado de la tipificación sanguínea del sistema ABO y factor Rh

Grupo sanguíneo (ABO)	
Factor Rh.	

BIBLIOGRAFIA

- Arbeláez C. (2009). Fundamentos de genética e inmunología para bancos de sangre y medicina transfusional. Medicina & Laboratorio. 15(1).
- Aronson C, et al., (2012). Manual técnico de la Asociación Americana de Bancos de Sangre. Buenos aires, Argentina: Asociación argentina de hemoterapia e Inmunoematología.
- Botella J, Clavero J. (1993). Tratado de ginecología. Madrid, España: Díaz de Santos, S.A.
- Jaime J, Gómez D. (2012). Hematología. La sangre y sus enfermedades. México, Ciudad de México: McGraw-Hill.

MANEJO DE RESIDUOS.

Tubos de vidrio con muestras biológicas (coágulos, plasma o suero)

Se desechan en palanganas con hipoclorito de sodio al 1%

Tubos al vacío

Desechar en bolsa roja



ESQUEMA PARA LA DETERMINACIÓN DEL GRUPO SANGUÍNEO ABO EN TUBO

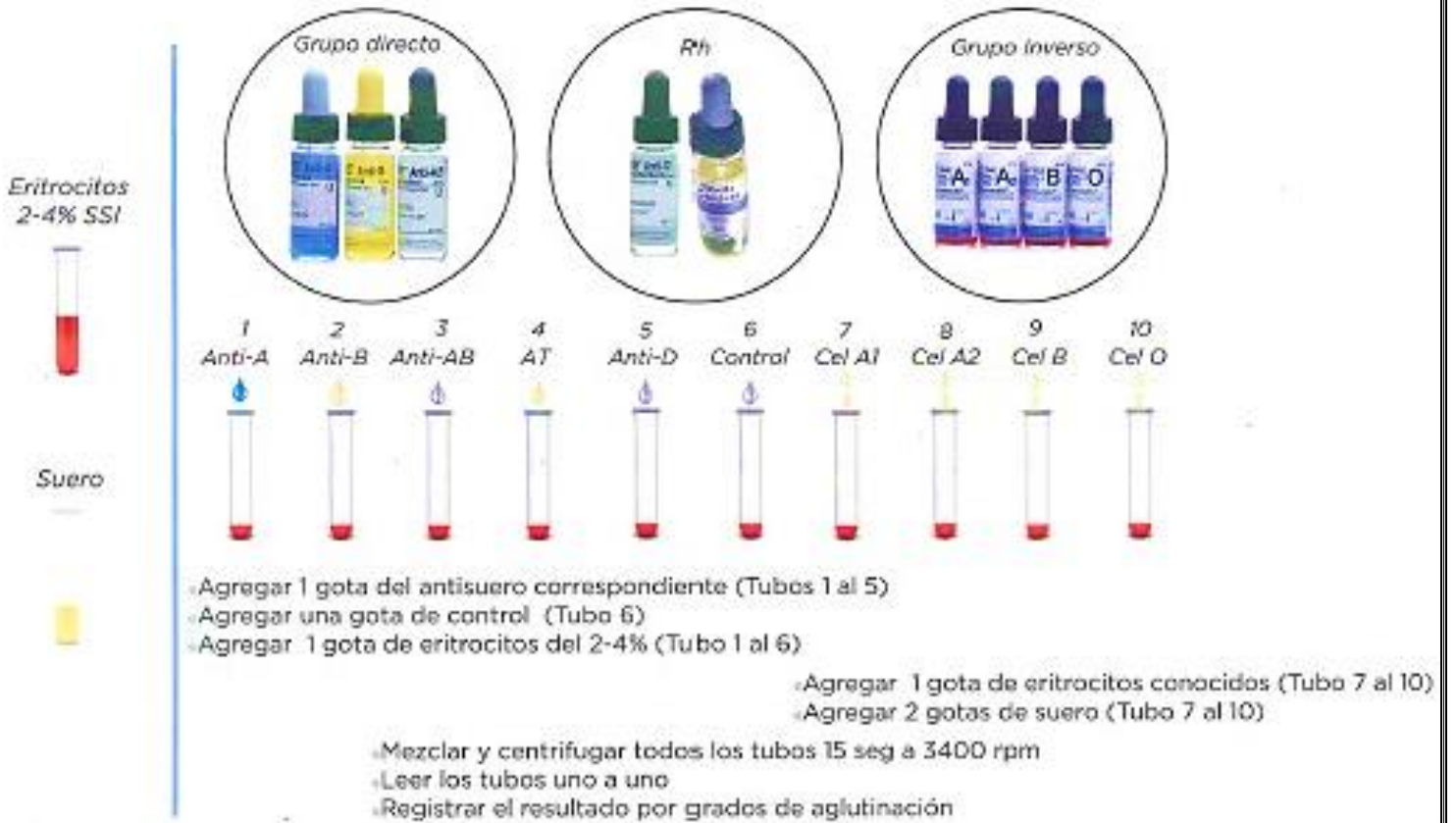


Imagen 33. Determinación del grupo sanguíneo ABO y factor Rh en tubo. Castillo R, et al., 2015.



Práctica No. 8

Prueba de confirmación de Rh negativo.**INTRODUCCIÓN.**

En ocasiones, la presencia del antígeno D en los hematíes solo puede ser demostrada mediante el empleo de procedimientos que incrementan la sensibilidad de la técnica aplicada a su determinación (incubación prolongada, empleo de medios enzimáticos, prueba de antiglobulina indirecta). Estas expresiones débiles poseen todas las características del antígeno D normal, pero cuantitativamente reducidas. Para evitar equívocos, el término D^u con que se las denominaba tradicionalmente (que pondría la idea de un antígeno cualitativamente diferente del D) ha sido prácticamente abandonado en los últimos años. Los hematíes con expresiones débiles de D se clasifican como actualmente como D-positivos, y se consideran más apropiado denominar "D débil" a estas formas atenuadas del antígeno. Por otra parte, la avidéz de los reactivos anti-D (especialmente los de tipo IgM) ha ido aumentando en estos últimos años como consecuencia de una cuidadosa selección de anticuerpos monoclonales, lo que ha reducido extraordinariamente el número de casos que actualmente se clasifican como D-débiles (Sans-Sabrafen J, et al., 2006).

Las madres con Rh negativo reciben especial atención. El primer hijo con Rh positivo de una madre con Rh negativo suele ser normal porque rara vez se forman anticuerpos contra Rh (anti-D) durante el primer embarazo. Aunque unas cuantas células Rh positivas pueden penetrar en forma periódica a la circulación de la madre durante el embarazo, su número no es suficiente para inducir sensibilización. Los grandes números de células positivas para Rh necesarias para sensibilizar a la madre por lo general no penetran en la circulación materna hasta después del nacimiento. Cuando inicia la separación de la placenta del útero y finalmente es expulsada, la barrera que separa la circulación materna y fetal se altera y algunas células fetales positivas para Rh en las vellosidades pueden introducirse a los vasos sanguíneos y alcanzar la circulación materna. En términos generales, mientras más grande sea el volumen de sangre fetal que penetra en la circulación de la madre, mayor es la probabilidad de sensibilización del antígeno Rh y una vez que ocurrió la sensibilización, se desarrolla enfermedad hemolítica contra Rh y en cualquier embarazo subsiguiente en el cual el feto sea Rh positivo (Crowley L, 2013).

El factor Rh negativo es mucho menos común que el positivo, ya que aproximadamente solo el 20% de la población tiene Rh negativo. Si su pareja es Rh positivo, lo más probable es que su bebé sea también Rh positivo. Cualquier persona que tiene Rh negativo, percibirá la sangre Rh positiva como extraña y si alguna vez se ve expuesta a ella, por ejemplo, a través de una transfusión, desarrollará anticuerpos contra la sangre Rh positiva que destruirán a las células de esa sangre (Stoppard M, 2000).

Una diferencia sustancial con el sistema ABO es que cuando este antígeno no se encuentra en la membrana del hematíe, en el suero o plasma de la persona no aparecen anticuerpos anti-D en forma natural. Debemos tener en cuenta que el antígeno D puede presentar variantes débiles, por ello las células que no muestran aglutinación directa con los antisueros comerciales anti-D no deben ser clasificados como Rh negativo hasta que se realicen pruebas adicionales para determinar la presencia del antígeno D débilmente expresado (Dueñas V. 2003).





OBJETIVO.

Que el alumno confirme la ausencia del antígeno D en pacientes con Rh negativos mediante la prueba de la antiglobulina indirecta.

MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS.

MATERIAL.

Gradilla para tubos de ensaye.
Tubos al vacío de tapón lila.
Material necesario para realizar la venopunción por sistema al vacío.
Pipetas Pasteur.
Marcador indeleble.
Palanganas para desechos.

EQUIPO.

Centrifuga clínica.

REACTIVOS.

Suero hemotipificador anti-D
Células control de Coombs.
Suero de Coombs.
Vial con albumina bovina al 22%
Solución Salina Fisiológica.
Hipoclorito de sodio al 5%

CONTENIDO.

8.1 PRUEBA DE ANTIGLOBULINA INDIRECTA.

Fundamento:

Aglutinación en la fase de antiglobulina en el tubo problema o del paciente, indica que los hematíes poseen el antígeno D débilmente expresado (D^u positivo), mientras que la no aglutinación indica la ausencia del antígeno D y de su variante D^u . Los hematíes D^u positivo deben ser considerados como Rh positivos, sin embargo, es conveniente en el informe resaltar la condición del antígeno D débilmente expresado. Por ejemplo, si un individuo es de grupo sanguíneo A y la prueba en tubo para el antígeno D arroja resultados negativos con prueba variante D^u positiva, lo más conveniente será informarlo como: A D^u positivo o A Rh positivo débil (Dueñas V, 2003).

Técnica:

- I. Esta prueba debe de realizarse únicamente cuando en la tipificación de Rh, resulta como **Rh negativo**.
- II. Preparar una suspensión de eritrocitos del 2-5% de la muestra problema.
- III. Identificar dos tubos de 12x75 mm, uno como Rh y otro como control negativo.
- IV. Al tubo Rh se le debe añadir una gota del suero hemotipificador anti-D
- V. Enseguida, añadir una gota de suspensión de eritrocitos del 2-5% del paciente.
- VI. Al tubo control negativo, se le añade una gota de la suspensión de eritrocitos del 2-5% del paciente más una gota del vial del control negativo (si es que se tiene).
- VII. Mezclar y centrifugar durante 15 segundos a 3400 rpm.
- VIII. Se debe resuspender el botón eritrocitario que queda en el fondo de cada tubo, para esto se debe hacer una agitación suave y cuidadosa a cada tubo, con la finalidad de leer la presencia o ausencia de aglutinación. Se busca la aglutinación en el tubo problema. Que debe de ser negativa, por lo que debemos de hacer la confirmación de Rh negativo.





- IX. Ambos tubos se deben incubar de 15-20 minutos a una temperatura de 37°C.
- X. Una vez terminado el tiempo, centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos.
- XI. Se debe resuspender el botón eritrocitario que queda en el fondo de cada tubo, para esto se debe hacer una agitación suave y cuidadosa a cada tubo, con la finalidad de leer la presencia o ausencia de aglutinación en un fondo bien iluminado.
- XII. Si la aglutinación resulta negativa, se debe proceder con el suero de Coombs.
- XIII. Primero lavar los eritrocitos. Agregar a cada tubo, SSF hasta 2/3 de la capacidad total del tubo.
- XIV. Mezclar y centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos y decantar.
- XV. Repetir el lavado dos veces más.
- XVI. Agregar a cada tubo dos gotas de suero de Coombs.
- XVII. Mezclar y centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos.
- XVIII. Se debe resuspender el botón eritrocitario que queda en el fondo de cada tubo, para esto se debe hacer una agitación suave y cuidadosa a cada tubo, con la finalidad de leer la presencia o ausencia de aglutinación en un fondo bien iluminado.
- XIX. El tubo de control negativo no debe de presentar aglutinación.
- XX. Si el tubo problema presenta aglutinación, es variante D débil.
- XXI. En caso de resultar Rh negativo, es decir, que no hay aglutinación. Se debe asegurar mediante la adición de Células Control de Coombs (células sensibilizadas con IgG).
- XXII. Añadir una gota de células control de Coombs a ambos tubos.
- XXIII. Centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos.
- XXIV. En este paso, en ambos tubos deben de resultar positiva la aglutinación.

Actividad: Una vez terminada la experiencia, contestar la tabla número 16 en el apartado de **resultados** de esta práctica.

A continuación, se expone una imagen, donde se observan variables que afectan la sensibilidad de la prueba de la antiglobulina indirecta.

VARIABLE	VALOR O DESCRIPCIÓN
Temperatura de incubación	La temperatura óptima de reacción de los anticuerpos de importancia clínica es de 37°C. Dependiendo del método y el potenciador utilizado la temperatura de incubación puede variar.
Medio de reacción	La reacción antígeno-anticuerpo debe potenciarse con soluciones de bajo poder iónico (LISS) o con albúmina. Estos potenciadores aumentan la captación de anticuerpos por los hematíes, incrementando la sensibilidad de la prueba ¹¹⁻¹³ .
Relación células/suero	Comúnmente se usan dos gotas de suero por una de hematíes suspendidos al 2-5% en solución salina fisiológica.
Tiempo de incubación	El tiempo de incubación depende del potenciador utilizado. Cuando se usa albúmina, un tiempo de incubación de 30 minutos es suficiente para determinar la mayoría de anticuerpos de importancia clínica. Cuando se usa LISS el tiempo de incubación varía de 10 a 15 minutos. Cuando se usan soluciones de bajo poder iónico y policationes (polybrene) el tiempo de incubación varía de 1 a 30 minutos.

Imagen 34. Variables que afectan la sensibilidad de la prueba de la antiglobulina indirecta. Aronson C, et al., 2012.





RESULTADOS.

Tabla 16. Presencia o ausencia de aglutinación en la determinación de Rh negativo.

	Prueba a 37°C	Suero de Coombs	Células control
Tubo problema			

BIBLIOGRAFÍA.

- Aronson C, et al., (2012). Manual técnico de la Asociación Americana de Bancos de Sangre. Buenos aires, Argentina: Asociación argentina de hemoterapia e Inmunohematología.
- Crowley L. (2013). Una introducción a la enfermedad humana. México: McGraw-Hill.
- Dueñas V. (2003). El bando de sangre. Cali, Colombia: Universidad del Valle.
- Sans-Sabrafen J, et al. (2006). Hematología clínica. España: Elsevier.
- Stoppard M. (2000). Nuevo libro del embarazo y nacimiento. Colombia: Norma S.A.

MANEJO DE RESIDUOS.

Tubos de vidrio con muestras biológicas (coágulos, plasma o suero)

Se desechan en palanganas con hipoclorito de sodio al 1%

Tubos al vacío

Desechar en bolsa roja



ESQUEMA PARA LA CONFIRMACIÓN DE RH NEGATIVO EN TUBO.

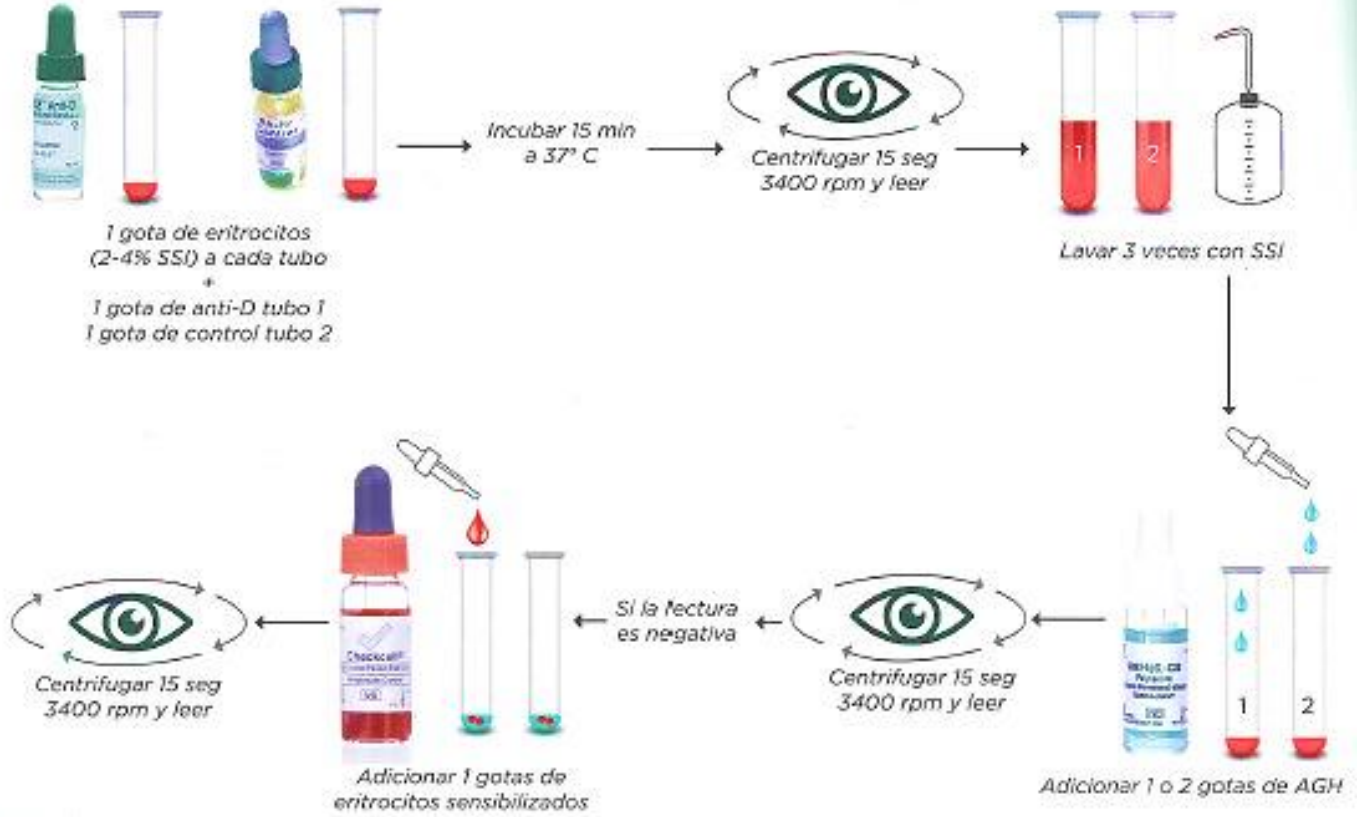


Imagen 35. Confirmación de Rh negativo en tubo. Castillo R, et al., 2015.



Práctica No. 9

Determinación de subgrupos A o prueba de la Lectina.

INTRODUCCIÓN.

Los subtipos de los grupos sanguíneo sistema ABO se denominan subgrupos y/o variantes. Los subgrupos de ABO se diferencian por las cantidades de antígenos A, B, y O (H) sobre los eritrocitos. Los más comunes son los subgrupos de A y B, y de estos dos, son más comunes los subgrupos de A. los dos principales subgrupos de A son A₁ y A₂. Los subgrupos son clasificados por la cantidad del antígeno A, y esta cantidad disminuye en el orden A₁, A₂, A₃, A_X, A_{end.}, A_m, A_{el.} Los subgrupos varían también en las diferentes poblaciones; por ejemplo, en los europeos aproximadamente el 80% de las personas son del grupo A y AB poseen el subgrupo A₁, y el restante 20% el A₂ o A₂B. Entre los subgrupos de A₁ y A₂, hay diferencias cualitativas y cuantitativas. La transferasa A₁ es más eficiente que la transferasa A₂ en convertir la sustancia H al antígeno A. Aproximadamente el 80% de las personas del grupo sanguíneo A o AB tienen eritrocitos que son aglutinados por anti-A₁, por lo tanto, son clasificadas como A₁ o A₁B, el restante 20% cuyas células que no son aglutinadas por anti-A₁ son A₂ o A₂B. Las pruebas con anti- A₁ son necesarias de rutina para donantes o receptores (Arbeláez C, 2009).

Puesto que las células A₁ y A₂ reaccionan fuertemente con los antisueros anti-A comerciales su diferenciación se hace poniendo a reaccionar a las células A con el suero humano absorbido anti-A₁ o con la Lectina anti-A₁ obtenida de las semillas de la planta *Dolichos biflorus*, estos reactivos aglutinan las células A₁ pero no las A₂ (Dueñas V, 2003).

OBJETIVO.

El alumno realizará la diferenciación de subgrupos de A, mediante la prueba de la Lectina, para clasificar a los subgrupos del grupo sanguíneo A como A₁ o A₂.

MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS.

MATERIAL.

Gradilla para tubos vacutainer.
Tubos de ensayo de 12x75 mm.
Tubos al vacío de tapón lila.
Material necesario para realizar la venopunción por sistema al vacío.
Palanganas para desechos.
Pipetas Pasteur.
Marcador indeleble.

EQUIPO.

Centrífuga clínica.

REACTIVOS.

Suero hemotipificador anti-A₁.
Solución Salina Fisiológica.
Suero hemotipificador anti-H.
Sol. Hipoclorito de sodio al 5%

CONTENIDO.

9.1 PRUEBA DE LA LECTINA.

Fundamento:

El suero hemotipificador anti-A₁ reacciona con los hematíes A₁ y A₁B y se produce un proceso de aglutinación de los mismos. Salvo en los hematíes pertenecientes al grupo sanguíneo O, la sustancia H se detecta claramente en los hematíes A₂ y A₂B, El suero hemotipificador anti-H reacciona con los hematíes A₂ y A₂B y produce un proceso de aglutinación de los mismos.





Técnica.

- I. Preparar una suspensión de eritrocitos del 2-5% de las muestras obtenidas anteriormente.
- II. Identificar dos tubos de ensaye de 12x75 mm, como A1 y A2.
- III. Al tubo A1, se le debe añadir una gota del suero hemotipificador anti-A₁.
- IV. Al tubo A2, se le debe añadir una gota del suero hemotipificador anti-H.
- V. Enseguida añadir una gota de suspensión de eritrocitos del 2-5% del paciente o problema a cada uno de los tubos.
- VI. Mezclar con cuidado y dejar reposar aproximadamente 5 minutos.
- VII. Centrifugar durante a 3400 rpm durante 15 segundos.
- VIII. Se debe resuspender el botón eritrocitario que queda en el fondo de cada tubo, para esto se debe hacer una agitación suave y cuidadosa a cada tubo, con la finalidad de leer la presencia o ausencia de aglutinación en un fondo bien iluminado.
- IX. La intensidad de la aglutinación debe interpretarse de acuerdo a la siguiente tabla, para poder interpretar los resultados.

Tabla 17. Características visibles de la aglutinación

Intensidad de la aglutinación	Puntaje
Agregado grande	4+
Agregados grandes y se observan agregados más chiquitos	3+
Agregados pequeños	2+
Los agregados casi no se observan pero los hay	1+
No hay agregados (sin aglutinación)	Negativo

Actividad: Una vez terminada la experiencia, contestar la tabla número 18 en el apartado de **resultados** de esta práctica. De igual manera, con este dato, clasifique el grupo sanguíneo sistema AB0 en la tabla número 19.

Significado clínico.

La presencia de aglutinación en el tubo A1 indica la presencia de los antígenos A₁, y será clasificada como tipo de sangre A, subgrupo A₁ o AB, subgrupo A₁B. En caso contrario, cuando aglutine en el tubo A₂ indica la presencia de los antígenos A₂, y será clasificada como tipo de sangre A, subgrupo A₂ o AB, subgrupo A₂B (IMMUCOR Inc.).





RESULTADOS.

Nombre del paciente: _____

Edad: _____ Sexo: _____ Fecha: _____

Tabla 18. Resultados de la prueba de la Lectina.

Suero hemotipificador	Anti-A ₁	Anti-H
Aglutinación y puntaje		

Tabla 19. Resultado de la tipificación sanguínea sistema ABO y factor Rh.

Grupo sanguíneo (ABO)	
Factor Rh.	

BIBLIOGRAFIA

- Arbeláez C. (2009). Sistema de grupo sanguíneo ABO. Medicina & Laboratorio. 15(7-8).
- Dueñas V. (2003). El banco de sangre. Cali, Colombia: Universidad del Valle.
- IMMUCOR GAMMA. Anti-H and Anti-H Lectin. Extraída el día 10 de abril de 2018 de: <https://bit.ly/2ILMNpt>.

MANEJO DE RESIDUOS.

Tubos de vidrio con muestras biológicas (coágulos, plasma o suero)

Se desechan en palanganas con hipoclorito de sodio al 1%

Tubos al vacío

Desechar en bolsa roja



ESQUEMA PARA LA DETERMINACIÓN DE SUBGRUPOS DE A.

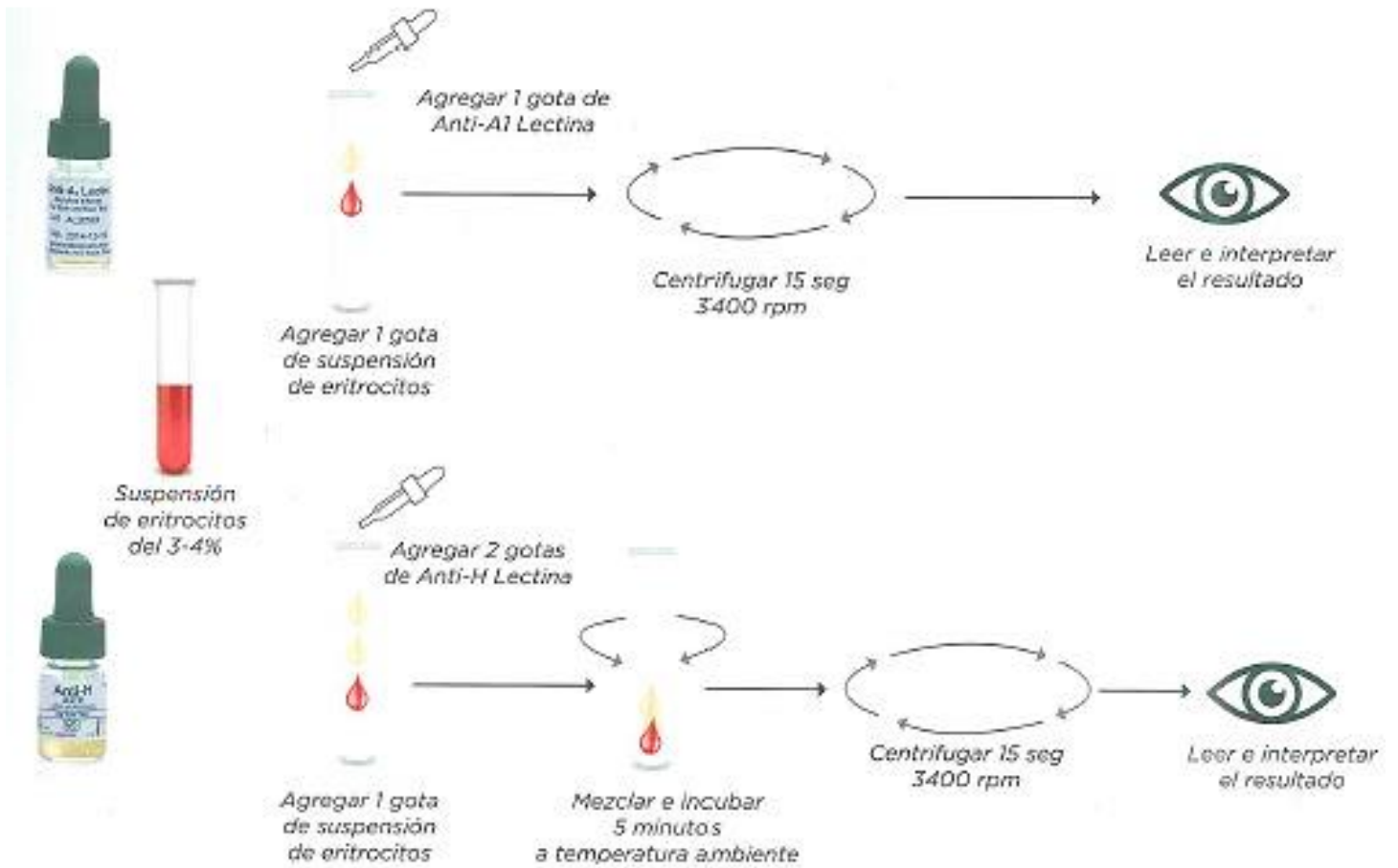


Imagen 36. Determinación de subgrupos de A en tubo. Castillo R, et al., 2015.



Práctica No. 10

Discrepancias en el sistema ABO.**INTRODUCCIÓN.**

Las muestras de donadores se tipifican rutinariamente para el sistema ABO en el momento de la donación. Las muestras de los receptores son tipificadas en el sistema ABO antes de la transfusión. Para la tipificación del grupo sanguíneo sistema ABO se requiere de los antígenos A y B en la membrana del eritrocito del paciente o donador (prueba directa) y para la búsqueda de isoaglutininas Anti-A o Anti-B en suspensión en el suero o plasma (prueba inversa o sérica) (BIO RAD).

La realización de la prueba directa como la inversa son requeridas en pacientes y donadores debido a que cada prueba sirve como una verificación de la otra. La discrepancia en el grupo sanguíneo sistema ABO, la podemos definir cuando los resultados del tipaje de la prueba directa no concuerdan con la prueba sérica o inversa. La discrepancia puede surgir debido a errores técnicos o condiciones clínicas del paciente. Todos los factores técnicos que puedan haber dado lugar a una discrepancia del sistema ABO deberán ser revisados y corregidos. También es esencial obtener información sobre la edad del paciente, diagnóstico, antecedentes transfusionales, medicamentos y antecedente de embarazo, entre otros. Si existe una discrepancia puede ser debida a un error en la recolección o identificación de la muestra, por lo que deberá obtenerse una nueva muestra del paciente y repetir el grupo directo e inverso (BIO RAD).

OBJETIVO.

El alumno interpretará y resolverá las discrepancias relacionadas con el sistema ABO, mediante la realización de la técnica de tipificación de grupo sanguíneos directa e inversa para corroborar que ambas pruebas coincidas y lo aplique en su ejercicio profesional en el banco de sangre.

CONTENIDO.

10.1 CLASIFICACIÓN DE LAS DISCREPANCIAS EN EL SISTEMA ABO

El manual técnico de la Asociación Americana de Bancos de sangre, establece tres clasificaciones principales que pueden causar las posibles discrepancias que son: 1) Problemas relacionados con las pruebas eritrocitarios; 2) problemas en las pruebas con suero o plasma y 3) errores técnicos.

- **PROBLEMAS RELACIONADOS CON LAS PRUEBAS ERITROCITARIAS:** la tipificación del sistema ABO eritrocitaria podría dar resultados inesperados por varios motivos, incluyendo los siguientes:

<p>La expresión débil ABO puede resultar de la herencia de subgrupos ABO débiles, debido a enfermedades como leucemia y otras neoplasias.</p>	<p>La aglutinación en campo mixto, en pacientes recientemente transfundidos que tienen más de un grupo ABO en los glóbulos rojos circulantes.</p>	<p>Neutralización de reactivos de tipo anti-A y anti-B, debido a las altas concentraciones de sustancias grupo específica A o B en suero, dando reacciones negativas</p>
--	--	---





		contra los eritrocitos suspendidos en el suero o plasma
Aglutinación o autoaglutinación espontánea de los glóbulos rojos suspendidos en suero o plasma, ocasionado por un exceso de glóbulos rojos producido por autoaglutininas.	Agregación espontánea de los glóbulos rojos, producida por encontrarse éstos, suspendidos en un medio hiperproteico o que la muestra obtenida sea de un paciente con soluciones macromoleculares inmediatamente antes de la toma.	Reacciones falso-positivas, causadas por un autoanticuerpo pH-dependiente, un anticuerpo reactivo dependiente o rouleaux.
<p>Poliaglutinación inusual de glóbulos rojos, como resultado de alteraciones heredadas o adquiridas de la membrana eritrocitaria con exposición de “autoantígenos crípticos”. Debido a que el suero humano naturalmente tiene anticuerpos contra estos antígenos crípticos, aquellos glóbulos rojos anormales se aglutinan inesperadamente en presencia de reactivos anti-A y anti-B humanos. En general, los anticuerpos monoclonales anti-A y anti-B no detectan la Poliaglutinación.</p>		

- **PROBLEMAS EN LAS PRUEBAS CON SUERO O PLASMA:** los problemas que pueden surgir de las pruebas ABO que emplean suero o plasma, son los siguientes:

Pequeños coágulos de fibrina en el plasma, o plasma coagulado en forma incompleta, que pueden confundirse con glóbulos rojos aglutinados.	Falta de isoaglutininas en lactantes menores de 4-6 meses de edad. Las isoaglutininas presentes en el recién nacido son adquiridas pasivamente desde la madre.	La ausencia inesperada de aglutininas ABO en presencia de subgrupos A o B débiles.
La ausencia inesperada de aglutininas ABO en niños que reciben nutrición parenteral y enteral prolongada, que son estériles y libres de bacterias.	Los trasplantes de células progenitoras hematopoyéticas ABO incompatibles con inducción de inmunoterapia.	Hipogammaglobulinemia severa secundaria a una terapia inmunosupresora o inmunodeficiencia heredada. O en pacientes que han recibido varios cursos de recambio plasmático utilizando solución de albumina.





Anticuerpos fríos (anti-M) o autoanticuerpos (anti-I) que dan reacción cruzada en la prueba inversa, dando reacciones positivas inesperadas.	Anticuerpos dirigidos contra los componentes de los diluyentes empleados para conservar los reactivos de glóbulos rojos A o B comerciales.	Agregación o aglutinación no específica ocasionada por el alto peso molecular de un expansor plasmático, rouleaux, alta concentración de proteína sérica o paraproteínas.
La transfusión reciente de componentes plasmáticos con aglutininas ABO podría ser causa de reacciones imprevistas.	La infusión reciente de inmunoglobulina endovenosa (IgV) que podría contener isohemaglutininas ABO.	

- ERRORES TÉCNICOS: los problemas técnicos relacionados con la muestra o durante la prueba también puede llevar a discrepancias en el agrupamiento ABO, como:
 - 1) Confusión de la muestra.
 - 2) Suspensión de glóbulos rojos demasiado concentrados o diluidas.
 - 3) Omisión del agregado de reactivos.
 - 4) No se registra observación de hemólisis.
 - 5) No se respetaron las instrucciones del fabricante.
 - 6) Escasa o excesiva centrifugación.
 - 7) Mala interpretación o registro inadecuado de los resultados de la prueba.

10.2 RESOLUCIÓN DE DISCREPANCIAS EN EL SISTEMA ABO.

Discrepancia	Posible resolución
Frente a un aparente problema serológico	El primer paso debe ser la repetición de las pruebas con la misma muestra, para excluir la posibilidad de errores técnicos durante las mismas. Los estudios adicionales incluyen pruebas con glóbulos rojos lavados, prueba de una nueva muestra del mismo origen, prueba para detectar aloanticuerpos inesperados; y revisión de la historia clínica del paciente de la muestra problema, tanto por enfermedades, medicación, como por transfusiones recientes que pueden contribuir a encontrarse resultados conflictivos en las pruebas.
Muestras con anticuerpos, antígenos ABO, o ambos aparentemente débiles o ausentes	Estas muestras pueden requerir de pruebas que utilicen métodos para incrementar la sensibilidad de la reacción antígeno-anticuerpo. Las técnicas incluyen incubación de glóbulos rojos a 4°C, utilizando glóbulos rojos tratados con enzimas y estudios de adsorción y elución.





<p>Las discrepancias ABO causadas por reacciones séricas</p>	<p>Comúnmente las causas que originan estas discrepancias en la tipificación con pruebas séricas incluyen a la presencia de anticuerpos fríos, el fenómeno de rouleaux, aloanticuerpos, reactivos a temperatura ambiente como por ejemplo el anti-M, y subgrupos A débiles no detectados con un anticuerpo anti-A1 específico. Para resolver una discrepancia ABO ocasionada por un anticuerpo anti-A1 en un individuo de grupo A, los glóbulos rojos deben enfrentarse con Lectina <i>Dolichos biflorus</i>, la cual aglutinara los eritrocitos de grupo A1 pero no los A2 ni a los subgrupos de A más débiles.</p>
<p>Errores en la prueba inversa</p>	<p>Pueden surgir discrepancias relacionadas con la presencia de un aloanticuerpo frío o un autoanticuerpo evidenciable con una prueba de detección de anticuerpos a temperatura ambiente y con la prueba de antiglobulina directa. Las técnicas para identificar anticuerpos ABO en presencia de autoanticuerpos fríos incluyen pruebas a 37°C sin centrifugación y técnicas de autoadsorción en frío.</p>
<p>Los autoanticuerpos fríos</p>	<p>Pueden causar aglutinación de los glóbulos rojos y reacciones inesperadas durante la tipificación. Los glóbulos rojos recubiertos con una gran cantidad de autoanticuerpos pueden aglutinarse espontáneamente y causar reacciones falso-positivas en las pruebas de tipificación con anti-A y anti-B. Normalmente cuando ocurren estas reacciones por los autoanticuerpos se pueden eliminar mediante el lavado de los glóbulos rojos con solución salina tibia. La autoaglutinación causada por IgM puede también inhibirse o dispensarse por incubación de los glóbulos rojos en presencia de ditiotreitol o aminoetilisotouranio brómico. Estos reactivos reducen el enlace de disulfuro en las moléculas IgM, disminuyendo su polivalencia y habilidad para aglutinar en forma directa.</p>

Actividad: hacer la tipificación de una muestra que será proporcionada por el profesor, utilizando la metodología de la prueba directa y la prueba inversa. Anotar los resultados en la tabla número 20 en el apartado de **resultados** de esta práctica, además de corroborar en la tabla número



21 la tipificación del grupo sanguíneo del sistema ABO. Es muy importante verificar si existe o no discrepancia en la tipificación de grupo sanguíneo sistema ABO. En caso de discrepancia, implementar medidas correctivas conforme al punto 9.2 (resolución de discrepancias en el sistema ABO). Puede ayudarse para dar una posible causa con la siguiente imagen.

Reactividad débil o ausente de glóbulos rojos	Subgrupo ABO Leucemia/neoplasia Transfusión Transfusión fetal intrauterina Trasplante Exceso de sustancia grupo específica
Excesiva reactividad de glóbulos rojos	Autoaglutininas/exceso de proteínas revistiendo glóbulos rojos Glóbulos rojos no lavados: proteínas plasmáticas Glóbulos rojos no lavados: anticuerpo sérico del paciente como componente reactivo Trasplante Antígeno B adquirido Fenómeno B(A) Transfusión de otro grupo
Reactividad de glóbulos rojos en campo mixto	Transfusión reciente Trasplante Hemorragia feto-materna. Quimerismo de gemelos o dispérmico (tetragamético)
Reactividad débil o ausente del suero	Edad (de 4 a 6 meses, personas añosas) subgrupo ABO Hipogammaglobulinemia Trasplante
Excesiva reactividad del suero	Autoanticuerpo frío Aloanticuerpo frío Anticuerpo sérico con componente reactivo Exceso de proteínas séricas Transfusión hemocomponentes plasmáticos Trasplante Infusión de Inmunoglobulina endovenosa

Imagen 37. Posibles causas en las discrepancias ABO. Aronson C, et al., 2012.

10.3 TIPIFICACIÓN DE GRUPO SANGUINEO ABO, Y FACTOR Rh.

Nota: realizar la tipificación de una muestra sanguínea problema que será proporcionada por el profesor. Realizar la prueba directa e inversa y verificar si existe discrepancia o no, anotar en la tabla número 22 los resultados.



RESULTADOS

Tabla 20. Resultados de la prueba directa e inversa para la tipificación del grupo sanguíneo sistema ABO.

	Prueba directa			Prueba inversa			
	Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Células A1	Células A2	Células B	Células O
Aglutinación y puntaje							

Tabla 21. Resultado de la tipificación sanguínea del sistema ABO.

Grupo sanguíneo sistema ABO	
------------------------------------	--

Tabla 22. Discrepancia en el sistema ABO

Existió discrepancia en el sistema ABO	Posible causa	Resolución aplicada

BIBLIOGRAFÍA

- BIO RAD. Discrepancia del grupo sanguíneo ABO: causas y resolución.
- Aronson C, et al., (2012). Manual técnico de la Asociación Americana de Bancos de Sangre. Buenos aires, Argentina: Asociación argentina de hemoterapia e Inmunohematología.

MANEJO DE RESIDUOS.

Tubos de vidrio con muestras biológicas (coágulos, plasma o suero)

Se desechan en palanganas con hipoclorito de sodio al 1%

Tubos al vacío

Desechar en bolsa roja





Práctica No. 11 Signos Vitales.

INTRODUCCIÓN.

Se denominan signos vitales o constantes vitales a las señales o reacciones que presenta un ser humano con vida que revelan las funciones básicas del organismo; de forma más sencilla los signos vitales se pueden definir como señales de vida. El organismo en condiciones normales realiza funciones que son vitales, las cuales pueden ser medidas mediante la observación o con la utilización de aparatos sencillos. Los signos vitales son muy útiles para detectar o monitorizar problemas de salud; la modificación de los signos vitales puede establecer en un gran número de casos el grado de perturbación general o específica de un órgano o sistema, el cual nos permite tomar las medidas necesarias para corregir las deficiencias y evitar complicaciones (Bobes J, 2006).

Actualmente, ya no se usa el término de signos vitales, es más utilizado constantes vitales. En resumen, podemos decir que se miden para vigilar y controlar las funciones del cuerpo, realizando una valoración exacta y científica. Las constantes vitales que se deben valorar son:

- 1) Temperatura corporal:** es el equilibrio entre el calor producido por el organismo y el que se pierde. Se mide en unidades de calor denominadas grados. Estos siguen habitualmente la escala Celsius. Pueden considerarse dos tipos de temperatura, la temperatura interna (es la que presentan los tejidos internos como tórax, cavidad abdominal, y pélvica. Suelen mantenerse constante alrededor de 37 grados centígrados) y la temperatura superficial o externa (que es la que presenta el tejido subcutáneo y la grasa. No se mantienen constante, y se eleva o disminuye en función de entorno y del medio ambiente, pudiendo oscilar entre los 20 y 40°C).
 - 2) Frecuencia respiratoria:** es el número de respiraciones por minuto. En el acto de respirar se produce la entrada de oxígeno y la salida de dióxido de carbono.
 - 3) Presión arterial:** es la medida de presión que ejerce la sangre a su paso por las arterias. Existen dos tipos de medidas de presión: la sistólica y la diastólica.
 - 4) Frecuencia cardíaca:** es el número de latidos por minuto. El pulso es la onda pulsátil de sangre producida por la contracción del ventrículo izquierdo del corazón. Sirve para valorar el flujo sanguíneo, la frecuencia cardíaca, el ritmo, el volumen y la tensión.
- Los valores anormales en estas constantes pueden indicar alteraciones de la salud que requieran la realización de pruebas médicas para determinar su causa (García R, et al., 2014).

Del donador o disponente, por normatividad, se establece que debe de registrarse el peso, la frecuencia cardíaca, las cifras de tensión arterial y la temperatura. El peso mínimo es de 50 Kg. Y aunque no es requisito normativo, en la mayoría de las instituciones se registra también la estatura, con el objetivo de calcular el volumen sanguíneo del disponente (D'Artote A, 2011).

OBJETIVO.

Permitir que el alumno sea capaz comprender el fundamento y la técnica de las constantes vitales, mediante la medición de las mismas, para que entienda su importancia en la selección del donador, conforme a la normatividad establecida en la NOM-253-SSA1-2012 para el banco de sangre.



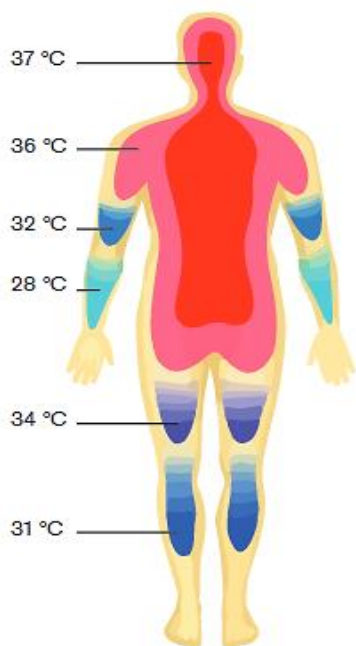
MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS.

EQUIPO.

Termómetro.
Baubanómetro.
Estetoscopio.
Cronómetro.

CONTENIDO.

11.1 MEDICIÓN DE LA TEMPERATURA.



Fundamento:

La temperatura corporal depende mucho del sitio del cuerpo. Las zonas más irrigadas como el corazón, el encéfalo, visceras, tiene una temperatura de 37°C. Mientras que las extremidades tienden a ser más frías. Como se muestra en la siguiente imagen:

- Disminución: la disminución de la temperatura corporal comúnmente se llama **hipotermia**. Existen diferentes tipos de hipotermias, la hipotermia leve (de 36°C a 33°C); la hipotermia moderada (32°C a 28°C) y la hipotermia grave (menor a 28°C). Las causas de hipotermia comúnmente se deben cuando la persona está en contacto con un entorno frío durante un tiempo prolongado. Aunque en el ámbito hospitalario ciertos procedimientos médicos o fármacos pueden disminuir la temperatura corporal. La hipotermia puede llegar a causar síntomas como son: pérdida del conocimiento, falta de reacción en las pupilas, taquicardia y bradicardia, incluso hasta un paro respiratorio.

Imagen 38. Temperatura corporal. Extraída de: <https://bit.ly/2w42aDO>.

- Aumento: el aumento de la temperatura corporal comúnmente se llama **fiebre o hipertermia**. La fiebre es considerada una reacción fisiológica del cuerpo, por otro lado, la hipertermia se alcanza cuando el organismo ya no puede controlar el aumento de esa fiebre o temperatura alta. Normalmente la fiebre se puede deber a causas infecciosas y no infecciosas. Dentro de las causas infecciosas está la neumonía, sinusitis, sepsis o infecciones bacterianas y virales. Las causas no infecciosas pueden ser por abstinencia de alcohol o drogas, pancreatitis, infarto al miocardio o hemorragia, inclusive después de una transfusión sanguínea.

Técnica:

- I. Lavarse las manos correctamente, aplicando la técnica propuesta por la OMS (o desinfectarse las manos).
- II. Los termómetros siempre deben de estar limpios, para esto se debe ocupar una solución antiséptica antes de medir la temperatura de cualquier paciente. Por esta razón, es más frecuente utilizar termómetros infrarrojos en banco de sangre porque no tienen contacto con el paciente.





- III. Con el termómetro limpio, se debe de sacudir el termómetro con movimientos hacia abajo hasta que llegue a la marca de 35°C en líquido contenido en el bulbo.
- IV. Se coloca la parte del bulbo del termómetro en la axila del paciente. Presionando el brazo contra el pecho para evitar que se caiga.
- V. Retirar el termómetro por la parte superior del mismo después de 5 minutos de haberlo colocado.
- VI. Realizar la lectura correspondiente de la temperatura visualizando en la escala del termómetro donde quedó el mercurio con respecto a las líneas indicadas. En la siguiente imagen se observa este proceso.



Imagen 39. Lectura del termómetro. Se debe de visualizar en que línea está el mercurio para poder dar la interpretación. Extraído de: <https://bit.ly/2LpBCE0>.

- VII. Se debe lavar el termómetro con solución antiséptica para poder utilizarlo con otro paciente.



Imagen 40. Medición de la temperatura axilar. Extraído de: <https://bit.ly/2J4g3rB>

Valor de referencia:

En el banco de sangre y medicina transfusional, la NOM-253-SSA1-2012, indica que es motivo de **exclusión indefinida** las personas que presenten temperatura axilar mayor de 37°C u oral mayor de 37.5°C.

Actividad: una vez terminado el procedimiento, anotar el resultado obtenido en la tabla número 23 en el apartado de **resultados** de esta práctica.





11.2 MEDICIÓN DE LA FRECUENCIA RESPIRATORIA.

Fundamento:

Se entiende como tal el número de inspiración que una persona hace en un minuto. Se suele medir cuando la persona está en reposo y consiste simplemente en contar el número de veces que se eleva su pecho en un minuto.

La respiración es el intercambio gaseoso entre el organismo y la atmósfera. Consta de dos fases: 1) la inspiración (durante la cual se introduce aire en los pulmones) y 2) la espiración (se expulsa aire de los pulmones). En la respiración intervienen, además de los órganos del aparato respiratorio (diafragma), los músculos del tórax y los movimientos de las costillas, por lo que en caso de lesiones a este nivel es importante el control de este signo vital (Bobes J, 2006).

- Disminución: se le conoce a la disminución de la frecuencia respiratoria por debajo del valor promedio como **bradipnea**, esta se puede dar por ciertos factores como alguna obstrucción de las vías respiratorias.
- Aumento: se le conoce al aumento de la frecuencia respiratoria por arriba del valor promedio como **taquipnea**, y se puede deber al sexo, pues las mujeres tienden a respirar más que los hombres, también cuando se presentan infecciones pues estos procesos tienden a aumentar la temperatura y por ende se trata de eliminar ese calor por la respiración.

Técnica:

- I. Sentar al paciente en un lugar cómodo y sin que este agitado.
- II. Por medio de la observación, se deben contar durante un minuto los movimientos del tórax en los adultos, de inspiración (es decir cuando se inhala aire) y de espiración (cuando se exhala el aire).

Actividad: una vez terminado el procedimiento, anotar el resultado obtenido en la tabla número 21 en el apartado de **resultados** de esta práctica experimental.

Valor de referencia.

En el banco de sangre y medicina transfusional, la NOM-253-SSA1-2012, NO indica que es motivo de **exclusión indefinida** las personas que presenten una frecuencia respiratoria por arriba o por abajo del valor de referencia, pero aun así es tomado en cuenta por el personal médico que es el responsable de hacer la valoración.

Existen diferentes tipos de frecuencias respiratorias normales con base a la edad. Bobes Julio en su libro, Técnico auxiliar de geriatría, indica los valores para las diferentes edades:

Neonato: 40-60 por minuto.

Adolescentes: 20-22 por minuto.

Adultos: 16-20 por minuto.

Ancianos: 14-18 por minuto.



11.3 FRECUENCIA CARDIACA.

Fundamento:

Es el número de latidos por minuto. El pulso es la onda pulsátil de sangre producida por la contracción del ventrículo izquierdo del corazón. Sirve para valorar el flujo sanguíneo, el ritmo, el volumen y la tensión (García R, et al., 2014).

- Disminución: se le conoce a la disminución de la frecuencia cardiaca por debajo del valor promedio como **bradicardia**, esta se puede dar por ciertas casusas benignas (estrés, dolores, fármacos) o casusas patológicas (fiebre, anemia, sepsis, hipertiroidismo).
- Aumento: se le conoce al aumento de la frecuencia respiratoria por arriba del valor promedio como **taquicardia**, y puede deberse a causas como vómitos, fármacos, hipertensión arterial, infecciones generales, insuficiencia renal.

Técnica:

- I. El personal de salud que va a tomar la frecuencia cardiaca, debe de lavarse las manos correctamente (o puede desinfectar las manos).
- II. Se presiona con muñeca del paciente con el dedo pulgar, del lado interno.
- III. Con los dedos índices y medio, se localiza el pulso 2 cm por debajo de la muñeca. Como se muestra en la siguiente imagen:



Imagen 41. Medición de la frecuencia cardiaca. Extraída de: <https://bit.ly/2HERtk9>

- IV. Al sentir el latido, ese es el lugar correcto. Se deben de contar el número de latidos que se producen durante 30 segundos. Una vez transcurrido ese lapso, se multiplica por 2 para conocer la frecuencia cardiaca.

Actividad: una vez terminado el procedimiento, anotar el resultado obtenido en la tabla número 23 en el apartado de resultados de esta práctica experimental.

**Valor de referencia:**

En el banco de sangre y medicina transfusional, la NOM-253-SSA1-2012, indica que es motivo de **exclusión indefinida** las personas que presenten una frecuencia cardíaca igual o menor a 50 latidos por minuto, a menos de que sean atletas, o igual o mayor a 100 latidos por minuto.

Existen diferentes tipos de frecuencias cardíacas normales con base a la edad. Bobes Julio en su libro, Técnico auxiliar de geriatría, indica los valores para las diferentes edades:

Neonato: 120-140 latidos por minuto. Mayores a 10 años: 55-90 latidos por minuto. Adultos: 60-100 latidos por minuto.

11.4 PRESION ARTERIAL**Fundamento:**

La presión arterial es la fuerza que ejerce la sangre contra las paredes de las arterias. Cada vez que late el corazón, bombea sangre hacia las arterias, por lo que la presión de la sangre es más alta cuando se contrae. La presión arterial está determinada por la fuerza y el volumen de sangre bombeada, así como por el tamaño y la flexibilidad de las arterias. Al medir la presión de la sangre se registran dos cifras. La cifra más alta o presión sistólica, se refiere a la presión en el interior de la arteria cuando el corazón se contrae y bombea la sangre al cuerpo. La cifra más baja o presión diastólica se refiere a la presión en el interior de la arteria cuando el corazón está en reposo y se está llenando de sangre, tanto la presión sistólica como la diastólica se miden en milímetros de mercurio (Bobes J. 2006). Cuando una persona excede el valor normal que es de 120 para la sistólica y 80 para la diastólica, se dice que tiene hipertensión arterial, cuando este valor de referencia es bajo, se dice que sufre de hipotensión arterial.

Existen diferentes tipos de frecuencias cardíacas normales con base a la edad. Bobes, Julio en su libro, Técnico auxiliar de geriatría, indica los valores para las diferentes edades:

Neonato: 120-140 latidos por minuto. Mayores a 10 años: 55-90 latidos por minuto. Adultos: 60-100 latidos por minuto.

Técnica:

- I. Lavarse las manos de acuerdo a lo establecido por la OMS.
- II. El personal de salud que debe tomar la presión arterial, debe indicarle al paciente que tome asiento para que esté tranquilo y cómodo.
- III. Se recomienda que el paciente permanezca en reposo por lo menos 10 minutos antes de la toma de la presión.
- IV. El paciente debe descubrir su brazo de preferencia.
- V. Se coloca el brazalete del esfigmomanómetro alrededor del brazo.
- VI. Se debe localizar la arteria humeral, que está por la parte interna del codo y se coloca ahí el estetoscopio.
- VII. Con la otra mano se debe cerrar la válvula de la perilla.
- VIII. Presionar la perilla hasta que la manecilla del esfigmomanómetro marque arriba de 30 mm/Hg más de la presión sistólica normal del paciente.





- IX. Si no se conoce la presión basal del paciente, inflar hasta aproximadamente 200 mm/Hg.
- X. Se abre la válvula de la perilla para que el aire salga poco a poco.
- XI. Cuando se escuche el primer sonido, nos indicara la presión sistólica, tomar nota de donde la marca la aguja.
- XII. Se continúa dejando salir el aire de la perilla, se seguirán oyendo los sonidos. Cuando se dejen de oír todos los sonidos, nos indicara la presión diastólica.

Actividad: una vez terminado el procedimiento, anotar el resultado obtenido en la tabla número 23 en el apartado de resultados de esta práctica experimental.

Valor de referencia.

En el banco de sangre y medicina transfusional, la NOM-253-SSA1-2012, indica que es motivo de **exclusión indefinida** las personas que presenten una presión arterial de 180 mm/Hg para la sistólica y de 100 mm/Hg o mayor para la diastólica. Y podrán aceptarse personas con hipertensión bajo control farmacológico.

RESULTADOS.

Nombre del paciente: _____
 Edad: _____ Sexo: _____ Fecha: _____

Tabla 23. Datos clínicos de la medición de los signos vitales.

	Temperatura	Frecuencia cardiaca	Frecuencia respiratoria	Presión arterial
Resultado				
Interpretación				

***interpretación:** indicar si el resultado obtenido fue alto, bajo o normal. Y en dado caso, si el paciente fue rechazado con base a los parámetros que indica la NOM-253-SSA1-2012.

BIBLIOGRAFIA

- Bobes J. (2006). Técnicas y procedimientos del auxiliar geriátrico. España: Publidisa.
- D'Artote A. (2011). Selección del donador. Revista Mexicana de Medicina Transfusional. 4(2).
- García R, et al., (2014). Mejora de las capacidades físicas y primeros auxilios para las personas dependientes. España: Paraninfo.
- Moran M, Shapiro H. (2004). Fundamentos de termodinámica técnica. Barcelona, España: Reverté.
- Como usar el termómetro. Extraída el día 18 de abril de 2018 de: <https://bit.ly/2J4g3rB>
- Secretaria de salud de colima. Método de verificación para esfigmomanómetros mercuriales y aneroides. Extraído el día 19 de abril de 2018 de: <https://bit.ly/2Ja2VB3>.





Práctica No. 12
Selección del donante.

INTRODUCCIÓN.

El proceso de selección del donador es vital en la cadena de seguridad transfusional que se realiza en un banco de sangre, tiene como objetivo transformar al donante en un donador que no genere daños a la salud del receptor ni a la del propio donador, por esta razón, es necesario que se revisen los criterios de aceptación con periodicidad y evitar que los lineamientos de selección sean tan estrictos que el porcentaje de rechazo se eleve a tal grado que ponga en peligro la seguridad y las reservas de la sangre y sus fracciones. Así mismo, estos criterios deben de ser evaluados a la luz del comportamiento de los marcadores infecciosos, de las reacciones adversas y de los diferimientos injustificados (D'Artote A, 2011).

Se denomina selección del donante al proceso que comprende el interrogatorio clínico, examen físico y prueba de laboratorio para determinar la citometría hemática, que decide si la donación puede ser perjudicial para el donante o si la transfusión puede suponer un riesgo para el receptor (Romero T, et al., 2010).

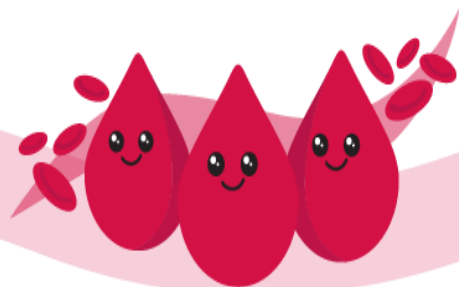
La selección del donante o del donador se debe de hacer minuciosamente, además de que como ya se mencionó, deben pasar por una serie de "filtros" no solo saber si su sangre es la ideal sino también corroborar que la persona que pase a donar es la misma que se identifica, pues muchas veces prestan credenciales para poder donar que son apócrifas incluso existen ocasiones donde el donante inicial se presenta identificado y después pasa a donar otra persona, por eso es importante siempre hacerle preguntas al posible donador que afirmen que realmente es la misma persona, muchos hospitales de tercer nivel, como el Hospital Infantil de México Federico Gómez, cuando descubren este tipo de irregularidades emiten una alerta en el hospital para que se den de baja esas personas y no puedan presentarse a donar sangre en el hospital de nuevo.

La Norma Oficial Mexicana 253-SSA1-2012, expone todos los requerimientos que una persona debe tener para poder donar sangre. En la actualidad, algunas personas están orientadas a detectar conductas sexuales de riesgo. La norma define otros datos que no pueden omitirse en el interrogatorio, los cuales son numerosos; cuando es posible, el candidato a donador puede participar, cumplimentando en el formato de historia clínica a todo lo correspondiente a antecedentes. El médico debe inquirir en aquellos que por su trascendencia requieran confirmación; otros, como la pérdida de peso mayor al 10% en un lapso breve, o la presencia de sudoración nocturna inexplicable, son ejemplos del rigor del interrogatorio. El examen físico ha de hacerse con especial cuidado para detectar lesiones cutáneas y crecimientos ganglionares en más de una región (Rodríguez H. 2014). En la siguiente imagen, se observan los requisitos mínimos que deben cumplir cualquier persona que desee ir a donar sangre.





¿Quieres donar #sangre?



✓ cumple los siguientes requisitos:

Ser mayor de 18 años.

Pesar mínimo 50 kg.

En general tener buena salud.

Presentar una identificación oficial con fotografía.

4 hrs.
Ayuno mínimo de 4 horas.

✗ y deberás:

No tener tos, gripe, dolores de cabeza o de estómago.



No padecer o haber padecido epilepsia, hepatitis, sífilis, paludismo, cáncer, enfermedades severas del corazón o vivir con VIH o sida.

No haber ingerido bebidas alcohólicas en las últimas 48 horas.

No haber tenido ningún tipo de cirugía en los últimos seis meses.

No haber sido vacunado contra hepatitis o rabia en el último año.

No haberse realizado tatuaje, perforación o acupuntura en el último año.

Para más información llama al 01(55) 5119-4620 al 28, ext. 1330 y 1332

<http://cnts.salud.gob.mx>

* Última fecha de actualización: 14 de junio de 2015.
Diseño: Dirección General de Información en Salud

Fuente: CENTRO NACIONAL DE LA TRANSFUSIÓN SANGUÍNEA



Imagen 42. Requisitos para la donación de sangre en México. Centro Nacional de la transfusión sanguínea de la secretaria de Salud, 2015.

OBJETIVO.

El alumno conocerá las variables involucradas que se emplean en la selección del donador de forma segura, mediante la aplicación de la NOM-253-SSA1-2012 y conforme a los lineamientos establecidos en el banco de sangre, con la finalidad de garantizar que el producto de la donación sea de calidad y no represente ningún riesgo para el paciente que necesite ese hemocomponente para su transfusión.



CONTENIDO.

12.1 ACTO PREVIO A LA DONACION.

- I. Se le debe de proporciona al donador toda la información en español, de forma clara y completa para que no existan dudas. Cuando existan personas que no hablen español, se le debe de dar la explicación en su idioma y de ser posible debe haber un interpretador.
- II. Antes de cada donación, el trabajador o trabajadora social, se encarga de dar una explicación en grupo de forma oral y escrita, material informativo y educativo sobre: 1) los estilos de vida saludables que deben tener los donadores; 2) las prácticas sexuales de riesgo que excluyen de manera temporal o definitiva a los donadores; 3) la importancia de la donación altruista en pro de la sociedad, el país, los receptores y para el mismo donante; 4) todo el proceso por el cual pasa el donante, haciendo énfasis al volumen de sangre a extraer, los métodos clásicos y por aféresis, el número de veces que puede donar en un año, las posibles reacciones adversas que pudiera llegar a experimentar el donante, y los cuidados que debe tener después de la extracción sanguínea; 5) explicar que sus datos personales están tratados de manera confidencial; 6) las pruebas de serología que se le realizan a su sangre (VHI, Hepatitis B y C, sífilis y Chagas); 7) en caso que exista algún tipo de patógeno detectado en la sangre, se le deberá de notificar al donante de forma personal en máximo 8 días; 8) cuando los análisis sean normales, se le deben de entregar solo por escrito; 9) explicar sobre el consentimiento informado.

Actividad: por equipos asignados por el profesor, explicar el procedimiento previo a la donación, mediante el uso de esquemas que logren enfatizar este proceso.

12.2 SELECCIÓN DEL DONANTE.

Fundamento

En la NOM-253-SSA1-2012 explica a la letra: el objetivo del proceso de selección de los candidatos a donar es determinar si la persona se encuentra en condiciones adecuadas para poder realizar la donación sin que existan riesgos para su salud ni para la del futuro receptor. El donante deberá cumplir una serie de requisitos mínimos establecidos para poder realizar una donación, en caso de duda prevalecerá el criterio medico el que en todo momento observará las disposiciones legales aplicables.

La selección del donante se deberá efectuar mediante los siguientes procesos:

A. IDENTIFICACIÓN DEL DONANTE:

El personal del banco de sangre, deberá asegurarse de la identidad de cada donante, para esto deberá comprobar su identidad con una credencial oficial con fotografía. Se deberán excluir a las personas que no se identifiquen o que no se parezcan en su fotografía de la credencial oficial.

Actividad: una vez explicada la parte de identificación del donante, se debe contestar la tabla número 25, presentada en el apartado de **resultados** de este manual.

B. EVALUACIÓN CLÍNICA DEL DONANTE.

Los criterios de la selección del donante llevan principalmente una historia clínica, en donde el médico responsable debe hacer una entrevista al paciente para asegurar que la sangre sea segura. Dependiendo de la entrevista clínica, el medico puede excluir al donante en tres





parámetros:

Exclusión indefinida. Algunas casusas de exclusión son:

Personas que no estén en pleno uso de sus facultades mentales	Menores de 18 años y mayores de 65 años	Personas menores de 50 Kg
Personas que mantengan prácticas sexuales de riesgo como prostitución, o relaciones sexuales con desconocidos o tener varias parejas sexuales en un lapso de un año	Personas que presenten malestar general o un aspecto enfermo o que muestren intoxicación por alcohol, estupefacientes, narcóticos, marihuana, inhalantes	Lo que tengan cualquier crecimiento anormal de un órgano
Personas que no puedan esperar 12 horas mínimo de reposo después de la donación.	Los que tengan sus constantes vitales alteradas (véase practica 9. Signos vitales)	

Exclusión permanente. Algunas casusas de exclusión son:

Personas que tengan infección comprobada para VIH	Personas que hubieran padecido hepatitis después de los 10 años de edad	Personas que tengan infección comprobada para Hepatitis B y C
Personas que tengan infección comprobada para Tripanosoma cruzi	Personas que tengan antecedentes o parezcan: neoplasias (a menos que estén curados), infarto al miocardio, esclerosis, angina, arritmias, neumopatías, bronquitis crónica, enfermedades graves del sistema nervioso central, enfermedad cerebrovascular, epilepsia, meningitis, enfermedades hepáticas, enfermedades renales, diabetes mellitus insulino dependiente, coagulopatías, alcoholismo crónico, consumo de drogas parenterales, personas que usen esteroides y hormonas para aumentar masa muscular, trastornos autoinmunes.	

Exclusión temporal. Algunas casusas de exclusión son:

Por doce meses para personas que usen acupuntura, perforaciones de piel recientes, tatuajes recientes, cateterismo, trasplantes, reproducción asistida, personas que hayan sido violadas, personas que compartan juguetes sexuales, personas que usen inhalantes, haber estado más de 72 horas en instituciones mentales o penales.	Mujeres que estén en periodo gestacional, y durante los seis meses que siguen el parto, cesárea o embarazo terminado por muerte gestacional. No se excluyen a mujeres que estén en periodo menstrual, a menos que cursen síntomas asociados.	Personas que tengan alergia, erupción cutánea, asma o reacciones alérgicas generalizadas, se diferir hasta que se resuelva su problema.
Se deben de diferir por 7 días a personas que tomen medicamentos	No ameritan diferimiento las personas que hubieran recibido vacunas contra la rabia, encefalitis, virus A o B de la hepatitis. Vacunas hechas con bacterias muertas o con polisacáridos capsulares, como tifoidea y cólera. Vacunas	



hechas con virus atenuados y toxoides.

Actividad: una vez explicada la parte de la entrevista clínica, realizar una historia clínica o de antecedentes, mediante un formato previamente establecido en la tabla 26, dentro del apartado de **resultados** de este manual, para enfatizar cómo es que se realiza este proceso.

C. PRUEBAS DE LABORATORIO.

Las pruebas de laboratorio se dividen en dos partes: las previas a la donación, en donde se realiza una Citometría hemática y las que se realizan después de la donación en donde se ratifica el grupo sanguíneo y también se realiza la detección de enfermedades infecto-contagiosas.

Las determinaciones analíticas de exclusión cuando se dona sangre total se observan en la siguiente tabla:

Tabla 24. Determinaciones analíticas previas a la donación de sangre total.

Altitud de residencia sobre el nivel del mar (m)	Criterios de exclusión o diferimiento			
	Hombres		Mujeres	
	Hemoglobina	Hematocrito	Hemoglobina	Hematocrito
Entre 0 y 1500	Menor a 135 g/dL	Menor a 40%	Menor a 125 g/dL	Menor a 38%
1501 o mayor	Menor a 145 g/dL	Menor a 44%	Menor a 135 g/dL	Menor a 40%

Las determinaciones analíticas se podrán basar principalmente en el hematocrito y hemoglobina, aunque también dependiendo de la unida a recolectarse hay diferentes criterios de exclusión como se observa en las siguientes tablas, extraída de la NOM-253-SSA1-2012:

Unidad a recolectarse	Criterio de exclusión o diferimiento conforme al resultado de la prueba de laboratorio	Momento de ejecución de la prueba
Concentrado de eritrocitos, bolsa única	- Hemoglobina o hematocrito, mismos valores que para donación de sangre total (véase la tabla 7 de esta Norma).	Antes de cada extracción
Concentrado de eritrocitos, bolsa doble	- Hemoglobina <140 g/L o hematocrito <42% en donantes procedentes o residentes a altitudes a nivel del mar (véase nota al pie de tabla).	Antes de cada extracción
Concentrado de plaquetas recolección sencilla o doble	- Hemoglobina o hematocrito, mismos valores que para donación de sangre total (véase la tabla 7 de esta Norma).	Antes de cada extracción
	- Cuenta de plaquetas: $\leq 150 \times 10^9/L$	

Imagen 43. Pruebas previas a la donación de componentes sanguíneos por aféresis. NOM-253-SSA1-2012.





Unidad a recolectarse	Criterio de exclusión o diferimiento conforme al resultado de la prueba de laboratorio	Momento de ejecución de la prueba
Plasma	- Hemoglobina o hematocrito, mismos valores que para donación de sangre total (véase la tabla 7 de esta Norma).	Antes de cada extracción
	- Proteínas séricas ≤ 60 g/L	Antes de la primera plasmaféresis
	- Tiempos de protrombina y de tromboplastina parcial activada, prologados.	
	En plasmaféresis de repetición, cualquiera de las pruebas siguientes: - Albúmina sérica ≤ 35 g/L, o bien - IgG ≤ 7.0 g/L e IgM ≤ 0.50 g/L	Cada vez que el volumen de plasma extraído sume seis litros en el lapso de un año o después de cada décima plasmaféresis, lo que ocurra primero.
Granulocitos	- Hemoglobina o hematocrito, mismos valores que para donación de sangre total (véase tabla 7 de esta Norma).	Antes de cada extracción
	- Cuenta de granulocitos: $\leq 4.0 \times 10^9/L$	

Imagen 44. Pruebas previas a la donación de componentes sanguíneos por aféresis, continuación, extraída de la NOM-253-SSA1-2012.

Actividad: Una vez revisado este tema, enfatice las pruebas de la citometría hemática, respondiendo las preguntas que se ponen en el punto tres en el apartado de **resultados** de este manual.

D. AUTOEXCLUSION POR EL DONANTE.

La autoexclusión del donante se hace siempre en cada donación al posible donador, y se debe de hacer conciencia en él para decir si su sangre es segura o no.

E. AUTOEXCLUSION POR TERCEROS.

Cuando haya personas que informen al banco de sangre que la persona a donar tiene estilos de vida que ponen en riesgo adquirir alguna infección transmisible, se deben de dar de baja esa unidad de sangre.

RESULTADOS

Tabla 25. Diseño de registro de los datos de identificación. Tomada de: Rodríguez H. 2014.

Banco de sangre:			
Donador:			
	Apellido paterno	Apellido materno	Nombre
Fecha de nacimiento:			
Domicilio:			
Teléfono:			





Familiar	Altruista	Dirigido
Grupo sanguíneo:	ABO: _____	Rh D: _____
Indicadores geográficos		
Originario de:	Residencia actual (en 5 años):	Residencia en el extranjero:

Tabla 26. Ejemplo de historia clínica. Tomada de: Rodríguez H. 2014.

Se debe marcar una X en el caso de que la afirmación sea correcta

I. Antecedentes de rechazo temporal			
Infecciones de vías respiratorias ()	Infecciones de la vía gastrointestinal ()	Tratamiento dental/absceso dental ()	Medicación reciente ()
Cuales:	Enfermedades graves ()	Hospitalización ()	Pérdida de peso <10% ()
Cirugía mayor () cirugía menor ()	Donación previa ()	Vacunas previas ()	Otras infecciones

II. Antecedentes de rechazo situación/riesgo			
Más de una pareja sexual ()	Ejercicio de la prostitución ()	Violación ()	Relaciones sexuales con personas que ejercen la prostitución ()
Relaciones sexuales con desconocidos ()	Contacto con enfermos con VIH ()	Enfermedades de transmisión sexual ()	Uso de drogas ()





Internamiento en penales/hospitales mentales ()	Contacto con enfermos con Hepatitis ()	Acupuntura ()	Serología positiva ()
Enfermedad reciente ()	Perforaciones diversas ()	Otras:	

III. Antecedentes de enfermedades crónicas/agudas

Cardiopatías ()	Crisis convulsivas o epilepsia ()	Neoplasias ()	Hipertensión/hipotensión ()
Tuberculosis:	Ictericia ()	Paludismo ()	Leishmaniosis ()
Toxoplasmosis ()	Uso de hormonas ()	Lepra ()	Otras infecciones

IV. Antecedentes gineco-obstétricos

Gestas ()	Partos o abortos ()	Cesáreas ()	Lactancia ()
---------------	--------------------------------	------------------------	-------------------------

Anotar los valores para cada uno de los rublos.

V. Exploración física

Peso Kg ()	Talla m ()	Frecuencia cardiaca ()	Temperatura ()
Observación de la piel:	Observación de las mucosas:	Observación de la orofaringe :	Observación del tórax:





Observación del abdomen:	Hepatomegalia ()	Esplenomegalia ()	Adenomegalia ()
--------------------------	-----------------------------	------------------------------	----------------------------

Esta parte es llenada por el médico tratante.

VI. Diagnostico			
Apto ()	Rechazado ()	Diferido ()	Causa:
Nombre y firma del médico:			

Hago constar que es mi voluntad donar sangre para empleo en transfusión y cualquier otro fin medico; que he recibido el folleto de autoexclusión; que lo he comprendido y que mis respuestas son verídicas			
Acepto mi responsabilidad por las omisiones o información incorrecta que hubiera proporcionado, así como también que se me realicen los estudios para detección de virus de la hepatitis B y C y de la inmunodeficiencia humana y otros estudios que fueran necesarios.			
Nombre y firma del donador:			

1) Conteste las siguientes preguntas, con base a la información proporcionada

- I. Un presunto donante, hombre, llega a la ciudad de México, perteneciente a la costa del estado de Guerrero, al realizarse la citometría hemática, se obtiene un hematocrito de 40% y una hemoglobina de 13.5 g/dL. Cuál sería su primera impresión, es candidato para donación de sangre completa o no. Explique.



- II. Una presunta donante, mujer, llega a la ciudad de México, perteneciente del estado de Querétaro, al realizarse la citometría hemática, se obtiene un hematocrito de 48%, una hemoglobina de 15.5 g/dL y una cuenta plaquetaria de 130,000 plaquetas por dL. Cuál sería su primera impresión, es candidato para aféresis plaquetaria o no. Explique.
- III. Una presunta donante, mujer, originaria de la costa de Oaxaca, residente de la ciudad de México desde ya 5 años, al realizarse la citometría hemática, se obtiene un hematocrito de 40%, una hemoglobina de 13.5 g/dL y una cuenta plaquetaria de 158,000 plaquetas por dL. Cuál sería su primera impresión, es candidato para aféresis plaquetaria, para sangre completa o para ningún de los dos. Explique.

BIBLIOGRAFIA

- D'Artote A. (2011). Selección del donador. Revista mexicana de medicina transfusional. 4 (2).
- Rodríguez H. (2014). El banco de sangre y la medicina transfusional. México: Médica Panamericana.
- Romero T, et al., (2010). Manual de técnicas y procedimientos en bancos de sangre. México: Prado.





Práctica No. 13

Determinación de enfermedades infecto-contagiosas en sangre del donante.**INTRODUCCIÓN.**

La infección transmitida por transfusión (ITT) es producida por la transmisión directa de un agente infeccioso específico o sus productos tóxicos desde la unidad de sangre al hospedero susceptible. Puede ser endógena, por portarla el donante; o exógena, por contaminación en el procesamiento del producto sanguíneo a transfundir. Estas enfermedades son causadas por diferentes agentes biológicos y pueden cursar a lo largo de diversas etapas, desde la infección inaparente a la enfermedad grave o muerte. Hay que tener en cuenta que los términos de infección y enfermedad no son equivalentes. El primero se refiere a la entrada y el desarrollo o multiplicación de un agente infeccioso en el hospedero. El desarrollo de la enfermedad depende de diversos factores que afectan a diferentes factores, como edad, sexo, inmunosupresión, entre otros (Sánchez P, et al., 2012).

Está bien establecido que la donación de sangre para obtención de componentes sanguíneos con menor riesgo proviene de donantes voluntarios no remunerados, pero esto sucede básicamente en países con alto índice de desarrollo humano. En nuestro país más del 90% de la captación de sangre es familiar por reposición, tipo de donación que implica mayor riesgo en la transmisión de agentes infecciosos por transfusión (Benítez G, et al., 2017).

Típicamente, el proceso de control serológico (pruebas para la detección de anticuerpos o antígenos) implica la determinación de cada una de las pruebas requeridas en cada muestra del donante. La mayoría de las técnicas de tamizaje son ensayos inmunoenzimáticos o de quimioluminiscencia. Si las pruebas de tamizaje son no reactivas, el resultado de la prueba de considera "no reactivo" (no hay evidencia de infección). Si una prueba es reactiva en la primera determinación ("inicialmente reactiva"), el inserto del equipo utilizado habitualmente indica que la prueba se repita por duplicado (Aronson C, et al., 2012).

La NOM-253-SSA1-2012, detalla las principales infecciones que se pueden transmitir durante una transfusión que son:

- **HEPATITIS.** Causada por el Virus de la Hepatitis B (HBV) y por el virus de la hepatitis C (HCV)
- **INMUNODEFICIENCIAS.** Causada por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (HIV), tipo 1 y 2.
- **SIFILIS.** Causada por la bacteria *Treponema pallidum*.
- **ENFERMEDAD DE CHAGAS.** Causada por el parásito *Trypanosoma cruzi*.

La NOM-253-SSA1-2012, también establece que para el banco de sangre autorice el uso terapéutico de las unidades de sangre y componentes sanguíneos, deberá contar con resultados inequívocamente negativos en las pruebas de detección de agentes transmisibles. En procedimiento de laboratorio correctamente efectuados y que su control de calidad demuestra que los resultados son confiables, el personal que realiza las pruebas, deberá estar íntimamente relacionado con la evaluación y actualización de las enfermedades infecto-contagiosas que deban identificarse en los donadores.



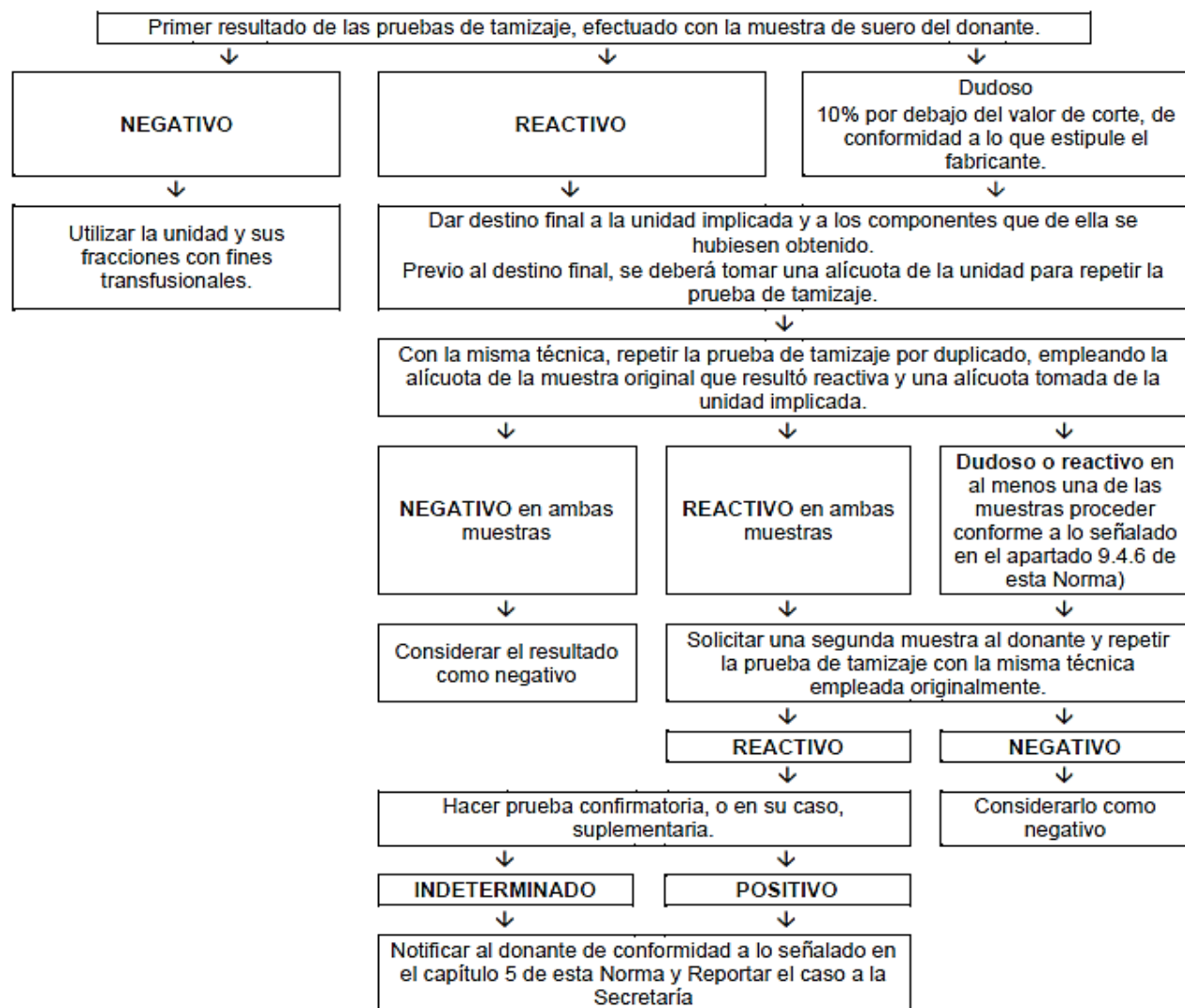


Imagen 45. Diagrama de flujo de acuerdo con los resultados de las pruebas de detección de agentes infecciosos transmisibles por transfusión. NOM-253-SSA1-2012.

OBJETIVO.

El alumno conocerá las técnicas analíticas para la determinación de enfermedades que pueden ser transmitidas por transfusión, mediante la explicación del fundamento teórico de cada una de las técnicas.

ACTIVIDAD PREVIA.

Investigue en cualquier libro de Biología de la biblioteca de tu escuela las siguientes preguntas:

- ¿Qué es un virus?, ¿Qué es una bacteria? y ¿Qué es un parásito?
- ¿Qué es el periodo de vida de un virus?
- ¿Qué es el periodo de incubación?



MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS.

MATERIAL.

Placas de vidrio para VDRL.
Pipetas Pasteur.
Material necesario para realizar la venopunción por sistema al vacío.
Tubos al vacío de tapón rojo.

EQUIPO.

Centrífuga clínica.

REACTIVOS.

Reactivo para prueba de VDRL.
Agua destilada.

13.1 DETECCIÓN DE TREPONEMA PALLIDUM.

La sífilis es una infección sistémica transmisible causada por la bacteria, *Treponema pallidum*, una espiroqueta muy móvil. *T. pallidum*, al igual que la mayoría de las treponemas, no puede cultivarse in vitro.

En la siguiente tabla se pueden de manifiesto las pruebas que se realizan tanto para la prueba de tamizaje como para la confirmatoria.

Tabla 27. Pruebas serológicas para la detección de sífilis

Detección de <i>Treponema pallidum</i> (sífilis)		
Prueba de tamizaje		Confirmatoria
Detección de anticuerpos específicos con especificidad de 98.5%	Aglutinación de partículas	Pruebas treponémicas con especificidad del 99%
- Inmunocromatografía - Ensayo enzimático	- VDRL - RPR	- Hemaglutinación - Inmunofluorescencia - Anticuerpos fluorescentes anti-treponema

13.1.1 PRUEBA CUALITATIVA EN SUERO PARA DETECCIÓN DE SIFILIS O VDRL

Fundamento:

Las reagininas, aparecen desde el comienzo de la infección en el suero del individuo infectado por *T. pallidum*. Estas reagininas se detectan en el suero por la reacción con un antígeno cardiolipínico purificado y estabilizado. Si la muestra contiene reaginina, ésta se unirá al antígeno produciendo una floculación (aglutinación) visible en microscopio (Wiener Lab).

Técnica:

- I. Obtener una muestra de sangre coagulada por el método de sistema al vacío.
- II. Dejar que la muestra coagule completamente a temperatura ambiente durante 15 minutos. No usar baño maría.
- III. Pasar el suero a un tubo de ensayo de 12x75 mm.
- IV. Con la ayuda de una pipeta Pasteur, colocar una gota de suero en una placa de vidrio.
- V. Enseguida añadir una gota del reactivo sobre la gota del suero, cuidando de no tocar la punta del goterón con el suero del paciente.





- VI. Mezclar con un aplicador para homogeneizar.
- VII. Agitar la placa con movimientos ondulatorios, durante 4 minutos la placa.
- VIII. Leer la placa al microscopio, para saber si hay presencia o no de aglutinación.
- IX. Siempre que se efectúe esta prueba debe de ir con sus respectivos controles positivos y negativos.
- X. Agregar 1 gota del control positivo y control negativo, en otro lugar dentro de la misma placa de vidrio.
- XI. Adicionar una gota del reactivo sobre la gota de cada control anterior.
- XII. Mover la tarjeta por 4 minutos.
- XIII. Leer la placa al microscopio.
- XIV. El uso de los controles es para asegurarse que los reactivos estén en correcto funcionamiento.
- XV. Si hay presencia de aglutinación, la muestra se declara como reactiva. Si no hay aglutinación, la muestra es no reactiva.

Actividad: una vez terminada esta parte experimental. Anote los resultados en la tabla 33, del apartado de **resultados** de esta práctica.

13.2 DETECCIÓN DE HEPATISIS VIRALES.

La hepatitis viral es una enfermedad infecciosa del hígado causada por distintos virus y caracterizada por necrosis hepatocelular e inflamación. El cuadro clínico y las lesiones histológicas producidas por los distintos agentes virales son prácticamente idénticos, pero existen diferencias en el mecanismo de transmisión, el periodo de incubación y la evolución y, sobre todo, en los marcadores serológicos que permiten reconocer el agente responsable. Tradicionalmente la hepatitis viral se dividió en dos tipos: *la hepatitis A o "infecciosa" causada por el virus de la hepatitis A (HAV) y la hepatitis sérica causada por el virus de la hepatitis B (HBV)*. En el transcurso de estos últimos 30 años se han identificado nuevos virus causantes de hepatitis en forma primaria: *el virus de la hepatitis delta (HDV), el virus de la hepatitis C responsable de la hepatitis no A no B clásica transmitida por vía parental (HCV), hepatitis no A no B epidémica que se transmite por vía entérica denominado virus de la hepatitis E (HEV)* (Cordeiro N, et al., <https://bit.ly/2Jn9Hn6>). En las siguientes tablas se pueden de manifiesto las pruebas que se realizan tanto para la prueba de tamizaje como para la confirmatoria para el Virus de la Hepatitis B y C.

Tabla 28. Pruebas serológicas para la detección del virus de la hepatitis B

Detección del Virus de la Hepatitis B (HBV)	
Prueba de tamizaje	Confirmatoria
Detección del antígeno de superficie del virus con especificidad de $\geq 99\%$ y sensibilidad $\geq 99.5\%$	Mediante detección de anticuerpos con especificidad $\geq 99.5\%$
- Inmunoensayo por quimioluminiscencia - Ensayo inmunoenzimático	



Tabla 29. Pruebas serológicas para la detección del virus de la hepatitis C

Detección del Virus de la Hepatitis B (HBV)	
Prueba de tamizaje	Confirmatoria
Detección de anticuerpos contra el virus o detección simultánea de antígenos virales y anticuerpos contra el virus, con especificidad de $\geq 99\%$ y sensibilidad $\geq 99.5\%$	Mediante inmunoblot
<ul style="list-style-type: none"> - Inmunoensayo por quimioluminiscencia - Ensayo inmunoenzimático 	

13.3 DETECCIÓN DEL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA (HIV) TIPO 1 Y 2.

La infección causada por el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) es una enfermedad provocada por el virus que progresivamente destruye los linfocitos. Existen varios tipos de virus del sida, los más frecuentes son el HIV-I y HIV-II. El tipo 1 es el responsable de la epidemia en occidente, mientras que el tipo 2 es típico del continente africano. (Borobia C, 2007). El HIV-I es el más virulento e infeccioso que el tipo HIV-II y es el causante de la mayoría de las infecciones en el mundo. El tipo 2 es menos contagioso.

El HIV puede transmitirse por las relaciones sexuales vaginales, anales u orales con una persona infectada (acto sexual sin protección); a través de la sangre y los hemoderivados en individuos que comparten agujas y jeringas contaminadas para inyectarse drogas y en quienes reciben transfusiones de sangre o derivados igualmente contaminados; existe un riesgo laboral pequeño entre los profesiones sanitarios, el personal de laboratorio y posiblemente otras personas que manipulan muestras sanguíneas o fluidos de personas con HIV, estudios realizados indican que el riesgo de transmisión después de una punción cutánea con una aguja o instrumento cortante contaminados con la sangre de la una persona con HIV es de aproximadamente 0.3%. Así mismo, puede transmitirse de la madre al hijo durante el embarazo, el parto y la lactancia. Actualmente en países desarrollados la transmisión vertical del virus de la inmunodeficiencia adquirida es totalmente controlada, siempre que la madre sepa que es portadora del virus (Dirección General de Epidemiología, 2012). En la siguiente imagen se observa la estructura de este virus.

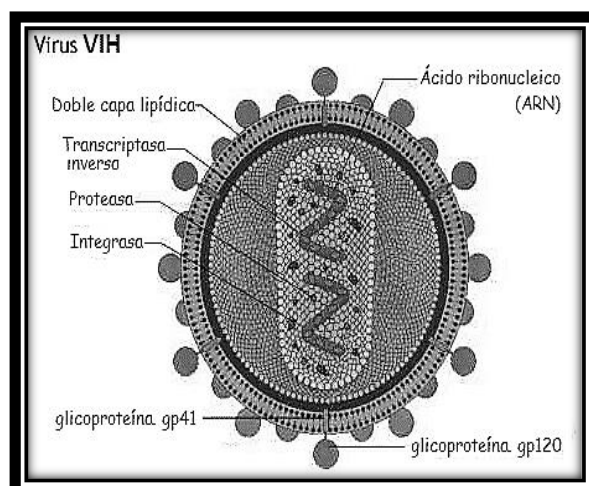
Imagen 46. Estructura del Virus de la Inmunodeficiencia. Extraída de: <https://bit.ly/2HuQShx>.

Tabla 30. Pruebas serológicas para la detección del VIH.

Detección del Virus de la Inmunodeficiencia Adquirida (HIV)	
Prueba de tamizaje	Confirmatoria
Mediante pruebas de marcadores de infección del virus que tengan una especificidad de $\geq 99\%$ y sensibilidad $\geq 99.5\%$	Mediante detección de anticuerpos contra el HIV tipos 1 y 2
<ul style="list-style-type: none"> - Inmunoensayo por quimioluminiscencia - Ensayo inmunoenzimático - Ensayo inmunoenzimático combinado para la detección de antígenos y anticuerpos virales 	<ul style="list-style-type: none"> - Inmunotransferencia (Western Blot) - Inmunofluorescencia - Inmunoensayo recombinante

13.4 DETECCIÓN DE TRYPANOSOMA CRUZI

La tripanosomiasis americana (enfermedad de Chagas) es una zoonosis parasitaria causada por *Trypanosoma cruzi*. El reservorio natural lo constituyen los armadillos, marsupiales, roedores, murciélagos y primates silvestres, además de ciertos animales domésticos como perros, gatos, incluso ratas y los cobayos. La enfermedad tiene mayor prevalencia en las regiones rurales más pobres de América Latina. La infección es transmitida al hombre al hombre por los triatómicos hematófagos, por la transfusión de sangre contaminada o verticalmente de la madre infectada al feto. La importancia de la parasitosis radica en su elevada prevalencia, incurabilidad, grandes pérdidas económicas por incapacidad laboral, y muerte repentina de personas aparentemente sanas (Carrada T, 2004).

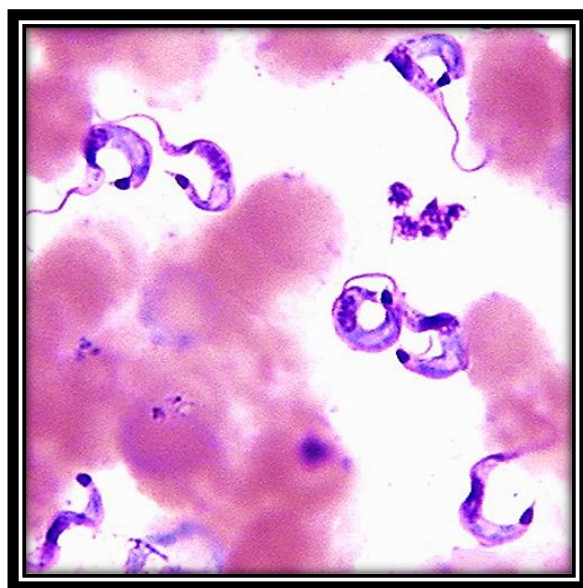


Imagen 47. *Trypanosoma cruzi*. Extraída de: <https://bit.ly/2r17xC3>

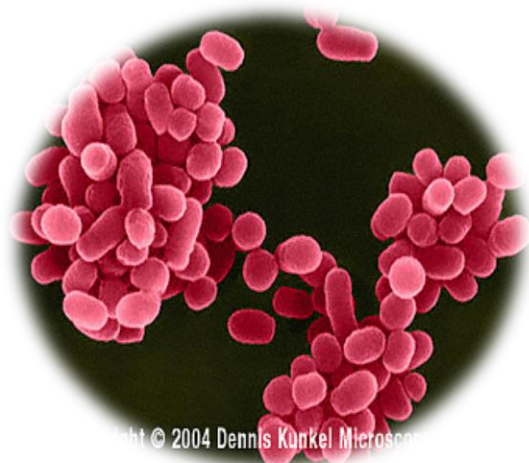
En la siguiente imagen se pueden de manifiesto las pruebas que se realizan tanto para la prueba de tamizaje como para la confirmatoria.

Tabla 31. Pruebas serológicas para la detección de *Trypanosoma cruzi*.

Detección de <i>Trypanosoma cruzi</i> (CHAGAS)	
Prueba de tamizaje	Suplementaria
Mediante detección de anticuerpos contra <i>T. cruzi</i> que tengan una especificidad y sensibilidad $\geq 95\%$ - Aglutinación directa - Ensayo inmunoenzimático - Tira reactiva	Se deberá emplear una prueba de detección de anticuerpos contra el <i>T. cruzi</i>, que tengan un formato distinto a la prueba empleada para el tamizaje y que haga una especificidad superior. También se puede realizar por PCR.

13.5 DETECCIÓN DE BRUCELLA.

Brucella spp. es un bacilo gramnegativo, que carece de factores de virulencia clásicos que se han reportado en otros gramnegativos, tales como: toxinas, flagelos, etc. A pesar de esto, es una bacteria asombrosamente virulenta. Debido a su capacidad de formar fácilmente aerosoles, se encuentra en la lista de bacterias, que pueden ser utilizadas como bioterrorismo, y debido a ello, en algunos países está restringido trabajar con *Brucella* (Guzmán R, et al., 2016).

Imagen 48. *Brucella*. Extraída de: <https://bit.ly/2HTPmIZ>

En la siguiente tabla se pueden de manifiesto las pruebas que se realizan tanto para la prueba de tamizaje como para la confirmatoria.

Tabla 32. Pruebas serológicas para la detección del VIH.

Detección de <i>Brucella</i>	
Prueba de tamizaje	Suplementaria
Se deberá realizar mediante pruebas de aglutinación en placa con antígeno teñido con rosa de bengala o ensayo inmunoenzimático para la detección de anticuerpos totales o de tipo IgM.	Se realizará a través de metodologías como titulación de anticuerpos mediante aglutinación en presencia de 2-mercaptoetanol.



13.5.1 PRUEBA CUALITATIVA PARA LA DETECCIÓN DE BRUCELLA O ROSA DE BENGALA

Fundamento:

También llamada prueba del antígeno tamponado es una técnica rápida de aglutinación en porta para la detección de anticuerpos anti-brúcela en sueros de animales y humanos. La suspensión bacteriana es reactiva tanto con anticuerpos IgG como IgM, siendo los primeros detectados más precozmente (infecciones subclínicas) y por un periodo más largo de tiempo (fase crónica) que con el procedimiento convencional de tubo (LINEAR CHEMICALS).

Técnica:

- I. Obtener una muestra de sangre coagulada por el método de sistema al vacío.
- II. Dejar que la muestra coagule completamente a temperatura ambiente durante 15 minutos. No usar baño maría.
- III. Pasar el suero a un tubo de ensaye de 12x75 mm.
- IV. Con la ayuda de una pipeta Pasteur, colocar una gota de suero en una placa de vidrio.
- V. Enseguida añadir una gota del reactivo sobre la gota del suero, cuidando de no tocar la punta del goterón con el suero del paciente.
- VI. Mezclar con un aplicador para homogeneizar.
- VII. Agitar durante 4 minutos la placa.
- VIII. Leer la placa al microscopio, para saber si hay presencia o no de aglutinación.
- IX. Siempre que se efectúe esta prueba debe de ir con sus respectivos controles positivos y negativos.
- X. Agregar 1 gota del control positivo y control negativo, en otro lugar dentro de la misma placa de vidrio.
- XI. Adicionar una gota del reactivo sobre la gota de cada control anterior.
- XII. Mover la tarjeta por 4 minutos.
- XIII. Leer la placa al microscopio.
- XIV. El uso de los controles es para asegurarse que los reactivos estén en correcto funcionamiento.

Actividad: Una vez terminada esta parte experimental. Anote los resultados en la tabla 34, del apartado de **resultados** de esta práctica.

13.6 FUNDAMENTO DE LAS METODOLOGÍA EMPLEADAS EN SEROLOGÍA.

A) INMUNOCROMATOGRAFÍA.

La inmunocromatografía se basa en la migración de una muestra a través de una membrana de nitrocelulosa. La muestra es añadida en la zona del conjugado, el cual está formado por un anticuerpo específico contra uno de los epítopes del antígeno a detectar y un reactivo de detección. Si la muestra contiene el antígeno problema, éste se unirá al conjugado formando un complejo inmune y migrará a través de la membrana de nitrocelulosa. De lo contrario, migrarán el conjugado y la muestra sin unirse. La zona de captura está formada por un segundo anticuerpo específico contra otro epítope del antígeno. Al llegar la muestra a esta zona, los complejos formados por la unión del antígeno y conjugado quedaran retenido y la línea se coloreará (muestras positivas). En el caso contrario las muestras son negativas. La zona control está formada por un tercer anticuerpo que



reconoce al reactivo de detección. Cuando el resto de la muestra alcanza esta zona, el anticuerpo se unirá al conjugado libre que no ha quedado retenido en la zona de captura. Esta línea es un control de que el ensayo ha funcionado bien, porque se colorea siempre, con muestras positivas y negativas (Morales A, Gaitán I. 2011).

En la siguiente imagen se puede observar el fundamento de una inmunocromatografía, específicamente de una prueba de embarazo, la hormona Gonadotropina coriónica humana a cuantificar se emplea como un antígeno, que será detectada por los anticuerpos específicos en la membrana de nitrocelulosa:

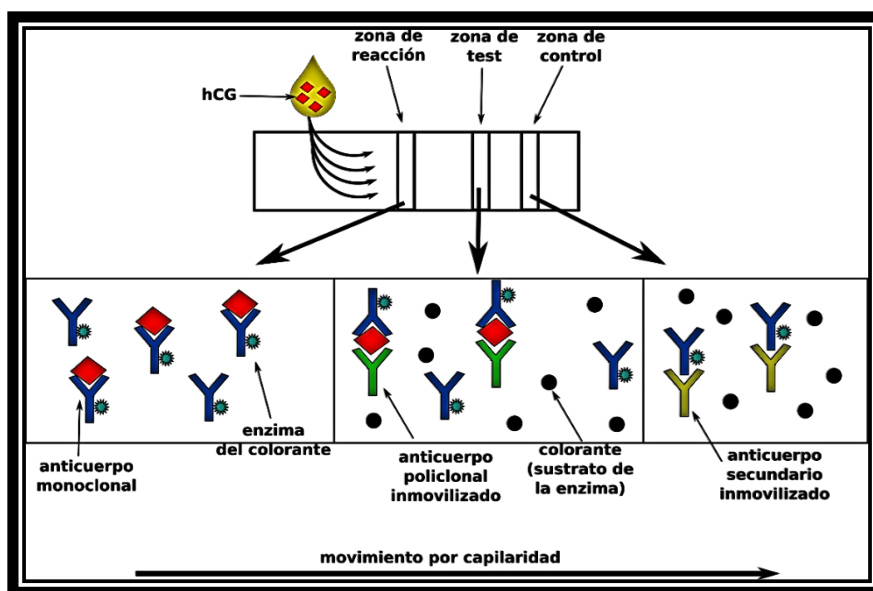


Imagen 49. Inmunocromatografía. Extraída de: <https://bit.ly/2HuvGfA>

A) ELISA

ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) se basa en el uso de antígenos o anticuerpos marcados con una enzima, de forma que los conjugados resultantes tengan actividad tanto inmunológica como enzimática. Al estar uno de los componentes (antígeno o anticuerpo) marcado con una enzima e insolubilizado sobre un soporte (inmunoabsorbente), la reacción Ag-Ac quedara inmovilizada. La enzima es capaz de modificar a un sustrato específico en presencia de un cromógeno, produciendo un color observable a simple vista o cuantificable mediante el uso de un espectrofotómetro (Rubio F, et al., 2016).

Dependiendo de cómo se utilicen los reactivos, si se utilizan como anticuerpos o antígenos, podemos tener diferentes tipos de ELISA. Cuando se utilizan anticuerpos marcados podemos tener:

- ELISA directa
- ELISA indirecta
- ELISA sándwich

Cuando se utilizan antígenos marcados podemos tener:

- ELISA competitivo

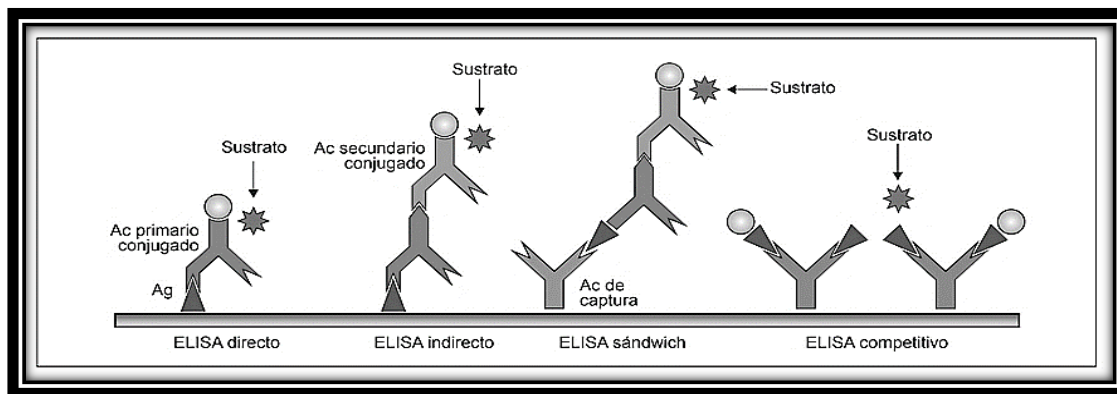


Imagen 50. Tipos de ELISA. (Rubio F, et al., 2016).

Existen diversos sistemas de ELISA para detectar antígenos o anticuerpos, pero todos los protocolos tienen en común el recubrimiento de una fase sólida (placa de ELISA, poliestireno) con el antígeno o anticuerpo los cuales son incubados con reactantes secundarios o terciarios acoplados covalentemente con una enzima, los conjugados no unidos son removidos por lavados y luego se agrega un sustrato cromógeno o fluorogénico, y el color o la fluorescencia producida se detecta visualmente o con la ayuda de un lector de placas de ELISA. La **ELISA directa** es el ensayo más usado para cuando un anticuerpo específico y pequeñas cantidades de antígeno (miligramos) purificado están disponibles. **ELISA indirecta** es la prueba más usada para vigilar antisueros o sobrenadantes que contiene anticuerpos específicos cuando las cantidades del antígeno purificado están en gran proporción. Tanto ELISA directa como la indirecta la porción que recubre la placa de ELISA es el antígeno. Por otro lado, la **ELISA sándwich** son de 3 a 5 veces más sensibles que la ELISA directa e indirecta en la detección del antígeno. En este tipo de ELISA, los anticuerpos específicos para el antígeno son los que recubren la placa de poliestireno. La ELISA tipo sándwich puede desarrollarse de forma simple en donde un anticuerpo conjugado reconoce al antígeno también reconocido por el anticuerpo que recubre la placa; o puede desarrollarse como doble sándwich en donde el anticuerpo que recubre la placa se une al antígeno, el cual es reconocido por otro anticuerpo que a su vez es reconocido por otro anticuerpo conjugado con la enzima (Arce A, et al., 2007).

A) INMUNODIFUSIÓN RADIAL

Esta técnica permite cuantificar de manera sencilla y económica inmunoglobulinas de isotipo G, M y A o antígenos solubles (C3, C4, transferrina, etc.) presentes en muestras biológicas. La técnica se basa en la difusión de la muestra conteniendo el antígeno a medir (inmunoglobulinas o antígenos solubles) en una matriz semisólida de agar en la que se encuentra disuelto en Ac específico. La muestra biológica se introduce en los orificios cilíndricos excavados en el agar y a medida que el antígeno difunde en forma radial, se alcanza la relación Ag-Ac que permite la formación de precipitados visibles. Una vez finalizada la difusión se mide el radio (R) de los precipitados que es proporcional a la concentración de antígeno (C). La concentración de proteína en la muestra biológica (Cx) se calcula realizando una curva de calibración utilizando muestras patrones de concentración conocida (Universidad de Buenos Aires, 2010).

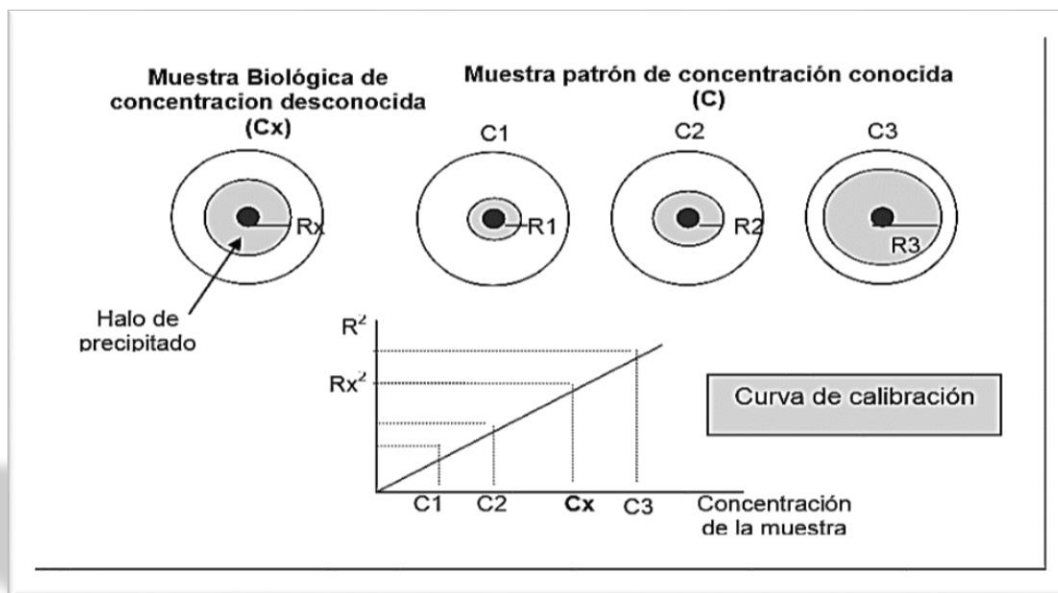


Imagen 51. Inmunodifusión radial. (Universidad de Buenos Aires, 2010).

A) INMUNOELECTROFORESIS.

La inmunoelectroforesis, es la combinación de una electroforesis con una Inmunodifusión en el gel. Consta de dos etapas, la primera se denomina electroforética en donde se separan los antígenos de una mezcla y la segunda, llamada Inmunodifusión en donde precipitan dichos antígenos con sus respectivos anticuerpos, formando bandas en forma de arco. En la siguiente imagen se explica este procedimiento. En el apartado "a" la muestra (m) se separa electroforéticamente en un gel de agarosa. Los componentes separados se representan por las áreas punteadas. Una vez finalizada la corrida, en "b", se abre un canal a lo largo de la placa para colocar el antisuero deseado. En "c", después de 24 horas de difusión, se evidencian los distintos sistemas antígeno-anticuerpo que precipitaron, formando arcos (Lomonte B, 2007).

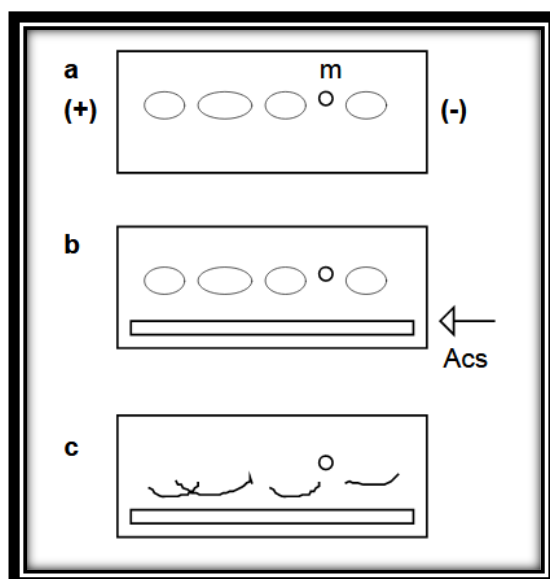


Imagen 52. Inmunoelectroforesis. (Lomonte B, 2007).

B) TÉCNICAS DE AGLUTINACIÓN.

Las técnicas de aglutinación, al igual que otras técnicas inmunológicas son útiles para la detección de antígenos o de anticuerpos. Se fundamentan en inducir una agrupación macroscópicamente visible de partículas, causada por interacciones antígeno-anticuerpo, que forman puentes entre ellas. Usualmente, el antígeno se encuentra sobre las partículas y los anticuerpos forman puentes. Pero también pueden utilizarse diseños diferentes, en donde los anticuerpos se encuentran unidos a la superficie de partículas, y el antígeno forma los puentes. En una aglutinación, los anticuerpos pueden estar dirigidos contra componentes propios de las partículas, por ejemplo, de eritrocitos, bacterias, otras células, etc. Y en este caso clasificamos a la técnica como **aglutinación directa o activa**. Un ejemplo de aglutinación activa es la tipificación de los grupos sanguíneos. Alternativamente, los anticuerpos pueden estar dirigidos contra un antígeno que se ha unido artificialmente a una partícula, la cual actúa como un medio de soporte pasivo, en cuyo caso clasificamos a la técnica como **aglutinación indirecta o pasiva**. Como medios de soporte se puede utilizar eritrocitos fijados con formaldehído o glutaraldehído, o materiales sintéticos como látex (una suspensión de microesferas de poliestireno). Para la detección de anticuerpos en una muestra, utilizamos partículas que poseen en su superficie el antígeno correspondiente. Su aglutinación pondrá en evidencia a los anticuerpos. En forma inversa, podemos recubrir partículas con anticuerpos, para utilizarlas en la detección de un antígeno dado. Este tipo de técnica se clasifica como una **aglutinación pasiva reversa** (Lomonte B, 2007). La siguiente imagen es la representación esquemática de las técnicas de aglutinación. El apartado A es la aglutinación activa, para la detección de anticuerpos; el apartado B es la aglutinación pasiva, para la detección de anticuerpos; y el apartado C es la aglutinación pasiva reversa, para la detección de antígeno.

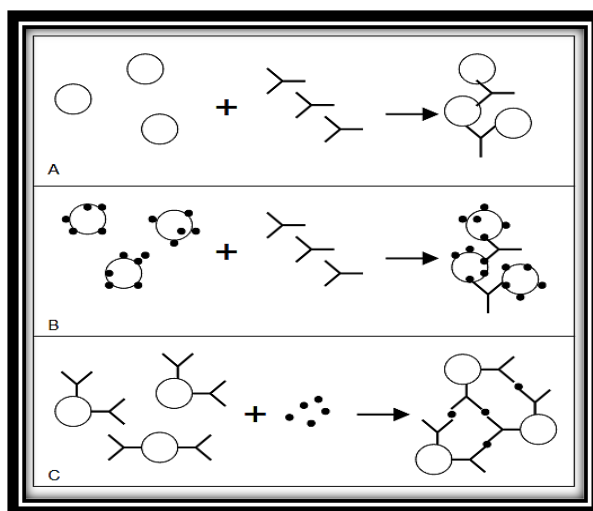


Imagen 53. Técnicas de aglutinación. (Lomonte B, 2007).

A) REACCIONES DE PRECIPITACIÓN.

Al mezclar cantidades suficientes de antígeno soluble con anticuerpos específicos, la interacción antígeno-anticuerpo puede dar lugar a una red capaz de ser visualizada como un precipitado. Esa red de la que hablamos, no es otra cosa que grandes complejos inmunes (CI) formados por la interacción Ag-Ac. Tal como se observa en la figura, cuando se agregan concentraciones crecientes de **Ag soluble** a una cantidad fija de suero conteniendo anticuerpos específicos, a medida que la cantidad de antígeno agregado aumenta, la cantidad de precipitado se incrementa hasta alcanzar un máximo, luego del cual declina (Universidad de Buenos Aires, 2010).

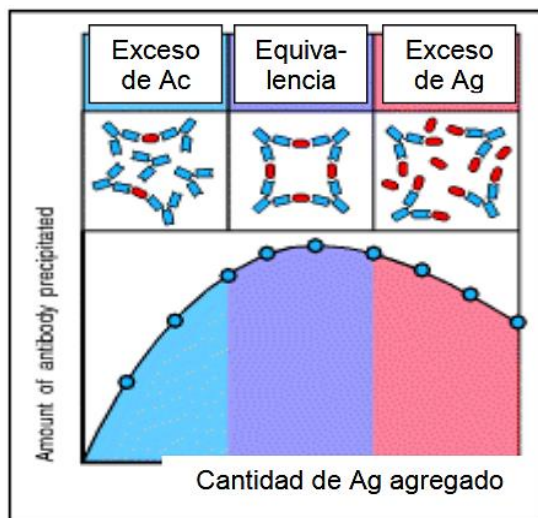


Imagen 54. Inmunoprecipitación. (Universidad de Buenos Aires, 2010).

A) TÉCNICAS DE INMUNOMARCACIÓN.

Este tipo de técnicas utilizan anticuerpos conjugados que detectan la presencia de antígenos ya sea en tejidos o en células. Cuando la inmunomarcación se hace en tejidos se denomina inmunohistoquímica y cuando se realiza sobre células se denomina inmunocitoquímica.

La **inmunomarcación DIRECTA** es la forma más simple de localizar un antígeno y consiste en utilizar un anticuerpo "marcado" específico para

diagnosticar un antígeno (anticuerpo primario). Para realizar esta técnica, se incubaba la muestra con el anticuerpo primario "marcado" durante un determinado tiempo, a la temperatura indicada, luego del cual se retiraba el exceso de anticuerpo mediante un lavado y se procedía a la detección de la marca. La **inmunomarcación INDIRECTA** utiliza un anticuerpo primario sin marcar que se reconoce al antígeno de interés y luego, para evidenciar la presencia del antígeno, emplea un segundo anticuerpo marcado (anticuerpo secundario) capaz de reconocer el anticuerpo primario. Por ejemplo, si el anticuerpo primario es la IgG de un ratón, al anticuerpo secundario podrá ser un anti-IgG de ratón hecho en conejo (Universidad de Buenos Aires, 2010). En la siguiente imagen, se observa la inmunomarcación directa e indirecta.

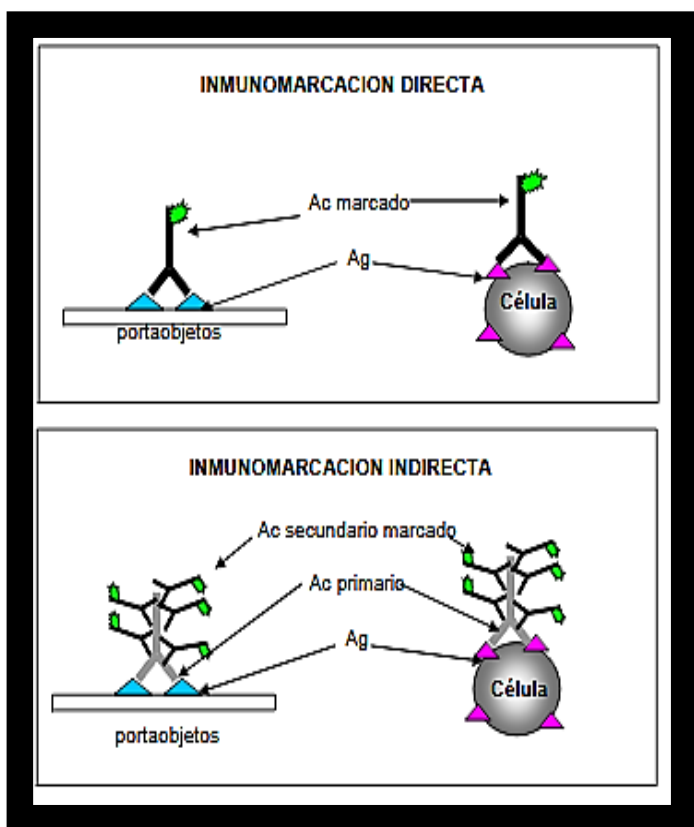


Imagen 55. Tipos de inmunomarcación. (Universidad de Buenos Aires, 2010).

Dentro de las técnicas de inmunomarcación, la más importante es la **INMUNOFLUORESCENCIA**. Las técnicas de Inmunofluorescencia se clasifican como directas e indirectas. En las primeras, la sonda marcada con el fluorocromo (usualmente anticuerpos policlonales o un anticuerpo monoclonal) interactúa directamente con el antígeno presente en la muestra, poniéndolo en evidencia. Por otro lado, las técnicas indirectas son aquellas en las que la sonda marcada sirve para detectar a los anticuerpos que, a su vez, se han unido al antígeno. Este tipo de técnicas es muy útil para la búsqueda de anticuerpos séricos, por ejemplo, contra antígenos tisulares en enfermedades autoinmunes, contra un determinado agente infeccioso. En la siguiente imagen, la técnica directa (izquierda) recibe su nombre porque el conjugado fluorescente (F) se une directamente al antígeno de interés en la muestra (M), evidenciándolo. En la técnica indirecta (derecha), el conjugado fluorescente detecta a los anticuerpos que se han unido al antígeno. En esta variante por lo general se logra una mayor sensibilidad física que en las técnicas directas, porque comúnmente varias moléculas del conjugado fluorescente se unen a los anticuerpos primarios, multiplicando así la intensidad de la señal (Lomonte B, 2007).

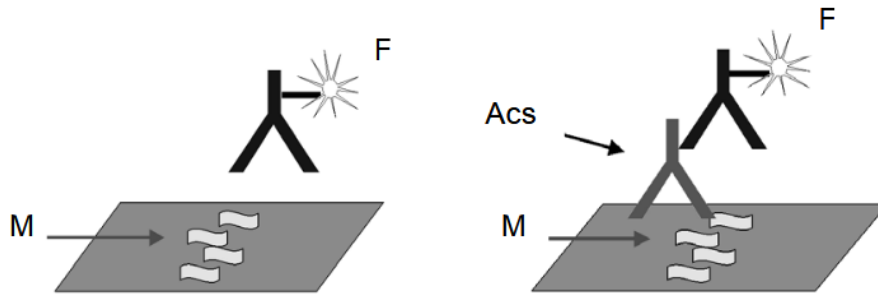


Imagen 56. Tipos de Inmunofluorescencia. (Lomonte B, 2007).

RESULTADOS.

Nombre del paciente: _____
 Edad: _____ Sexo: _____ Fecha: _____

Tabla 33. Resultados de la prueba cualitativa para la detección de *Treponema pallidum* o VDRL.

Presencia/ausencia de aglutinación	Imagen o dibujo

Tabla 34. Resultados de la prueba cualitativa para la detección de *Brucella* o Rosa de Bengala.

Presencia/ausencia de aglutinación	Imagen o dibujo

BIBLIOGRAFÍA.

- Aronson C, et al., (2012). Manual técnico de la Asociación Americana de Bancos de Sangre. Buenos aires, Argentina: Asociación argentina de hemoterapia e Inmunohematología.
- Benítez G, et al., (2017). Estudio de un periodo de ventana documentado por técnica de ácidos nucleicos. Revista Mexicana de Medicina Transfusional. 10(1).
- Borobia C. (2007). Valoración médica y jurídica de la incapacidad laboral. España: La ley.
- Cordeiro N, et al., Virus de las hepatitis. Instituto de Higiene. Extraída el día 25 de abril de 2018 de: <https://bit.ly/2Jn9Hn>
- Lomonte B. (2007). Manual de métodos inmunológicos. Universidad de Costa Rica. Acceso libre en: <https://bit.ly/2reibGB>
- Sánchez P, et al., (2012). Las enfermedades infecciosas y la transfusión de sangre. Revista latinoamericana de patología clínica. 59 (4).
- Tejerina M, et al., Infecciones por transmisión transfusional. Extraído el día 23 de abril de 2018 de: <https://bit.ly/2HmwBPh>
- Universidad de Buenos Aires. (2010). Guía de técnicas inmunológicas. Acceso libre en: <https://bit.ly/2FwlrjS>

MANEJO DE RESIDUOS.

Punzocortantes.

Desechar en contenedor rígido rojo.

Tubos de vidrio con muestras biológicas (coágulos, plasma o suero).

Se desechan en palanganas con hipoclorito de sodio al 1%

Tubos al vacío.

Desechar en bolsa roja



Práctica No. 14

Elaboración de formatos de autoexclusión.**INTRODUCCIÓN.**

La idea de brindar a la persona una oportunidad de autoexcluirse como donante tiene como base el hecho de que el individuo puede llegar a ocultar información valiosa o mentir sobre algunos aspectos relacionados con la encuesta de selección. Los motivos que tendría el posible donante para mentir u ocultar información son variados y entre ellos se cuenta la vergüenza de aceptar ante la otra persona su estilo de vida, o la presión que ejerce sobre el donante el hecho mismo de donar, ya que la sangre se necesita para un familiar, un amigo o para cumplir con requisitos de la institución hospitalaria (Dueñas V, 2003).

Normalmente, este formato se le entrega al donante al momento del registro de sus datos o cuando pasa a la entrevista médica, La elaboración de los formatos de autoexclusión debe de hacerse con base a lo descrito en la NOM-253-SSA1-2012. La cual indica los puntos mínimos que debe llevar. Es muy importante este tipo de formato, y debe de ser muy entendible para el posible donador, pues es el último recurso que tiene el Banco de sangre para crear conciencia en el donante sobre sus posibles estilos de vida, que pudieran ser perjudiciales en el proceso de donación.

El personal capacitado debe alentarlos para que se autoexcluyan en forma confidencial y voluntaria. Esta autoexclusión puede ser: 1) antes de la selección médica, condicionado por el material educativo que contiene la plática informativa o los folletos impresos; 2) durante la entrevista médica, cuando el sujeto inquiera con el médico las dudas surgidas con la información, con motivo de la identificación por el médico de las practicas o condiciones de riesgo a las que el candidato hubiese estado expuesto y que de esta manera lo excluya y 3) que el donador con antecedentes o prácticas de riesgo para adquirir los virus de inmunodeficiencia humana o de la hepatitis, ya que hubiese proporcionado su sangre o componentes, tenga la facilidad, mediante el talón de autoexclusión, notificar confidencialmente que no considera apta su sangre o componentes para uso transfusional y consecuentemente se les de destino final inmediatamente después de su recolección (López A, 2007).

La NOM-253-SSA1-2012, explica que la elaboración de este formato permite que la confidencialidad esté garantizada. Si el formato de autoexclusión contiene alguno de los puntos siguientes, se le debe de dar un destino final:

- a) El donante hubiera contestado que no considera adecuadas las unidades proporcionadas para uso terapéutico;
- b) En su respuesta hubiese ambigüedad;
- c) No lo hubiese contestado o entregado, o
- d) En caso de extravió del impreso.

El formato de autoexclusión deberá de reunir los requisitos y contenido que en la siguiente imagen se describen:



Requisitos del material informativo y educativo que se debe proporcionar al donante	Contenido del formato o impreso de respuesta de la autoexclusión del donante
<p>a) La información se otorgará por escrito, expresada de manera clara y entendible. Es recomendable que la información se presente de manera audiovisual o, en su defecto, con el uso de rotafolio;</p> <p>b) Tenderá a motivar y sensibilizar al donante para que la información que le es requerida la otorgue con precisión veracidad, y</p> <p>c) El material informativo y educativo deberá incluir:</p> <ul style="list-style-type: none"> - El objetivo de la autoexclusión e información de la existencia de periodos de ventana de enfermedades infecciosas transmisibles por transfusión, durante los cuales debe evitarse la donación; - Información que lo habilite a identificar las prácticas sexuales y cualquier otro evento de riesgo que pudiese haberse expuesto para adquirir una infección transmisible por transfusión, e - Información sobre la manera de proceder con el impreso donde manifestará si considera apta o no su sangre o componentes sanguíneos para uso terapéutico. 	<p>a) El formato o impreso se identificará exclusivamente con el número exclusivo asignado a la unidad de sangre o componente sanguíneo extraído;</p> <p>b) Ofrecerá dos opciones de respuesta para que el donante señale en una de ellas, con una "X"; si considera apta o no su sangre o componentes sanguíneos para uso terapéutico, y</p> <p>c) Tendrá la información necesaria, conforme al mecanismo adoptado por el establecimiento, para asegurar que el donante lo responda y lo haga llegar al personal asignado del banco de sangre o puesto de sangrado.</p>

Imagen 57. Documentos aplicables para el procedimiento de autoexclusión confidencial. NOM-253-SSA1-2012.

OBJETIVO.

El alumno elaborará un formato de autoexclusión, mediante el empleo de los puntos contenidos en la NOM-253-SSA1-2012 para entender el proceso completo de donación que ocurre en el banco de sangre.

CONTENIDO.

Actividad: realizar por equipos un formato de autoexclusión, en forma de un tríptico con imágenes referentes al tema; apoyándose en los puntos mínimos contenidos en la parte introductoria. Además, puede basarse en los siguientes planteamientos.

- 1) Crear un objetivo donde se exponga la finalidad de la autoexclusión
- 2) Crear una frase en donde se pueda crear conciencia y se logre sensibilizar al posible donador de contestar sus respuestas de forma verídica.



- 3) Explicar cuáles son las posibles prácticas de riesgo a las que el donante se puede exponer y en las cuales puede adquirir una infección, sin saberlo y que puede ser transmitida por transfusión.
- 4) Debe escribir una frase donde el posible donador afirme que su sangre es segura para transfundir a una persona enferma.

RESULTADOS.

Pegue aquí su formato de autoexclusión.

BIBLIOGRAFIA

- Dueñas V. (2003). El bando de sangre. Cali, Colombia: Universidad del Valle.
- López A. (2007). Fundamentos de banco de sangre y medicina transfusional. México: Agrupación Mexicana para el Estudio de la Hematología, A.C.
- NOM-253-SSA1-2012. Para la disposición de sangre y sus componentes con fines terapéuticos.





Práctica No. 15
Pruebas cruzadas.

INTRODUCCIÓN.

Como ya se mencionó en prácticas anteriores, el proceso de donación es muy complejo, e implica desde la recepción hasta que se confirma que los productos sanguíneos son seguros para poder ser transfundidos a un paciente que los necesite. En el banco de sangre, cuando se recibe una solicitud de transfusión, se deben de realizar las pruebas pretransfusionales.

Las pruebas pretransfusionales de un receptor consisten en "tipificar" la sangre del paciente y hacer pruebas cruzadas para los principales grupos sanguíneos, entre el donante y el receptor. Con la finalidad de elegir el componente sanguíneo de menor riesgo para el receptor. Además, se debe hacer un rastreo de anticuerpos irregulares, tanto en el paciente como en el donante. La tipificación determina el fenotipo ABO y Rh de los eritrocitos del receptor, por el uso de antisuero dirigido contra antígenos A, B y D. Las pruebas cruzadas detectan isoaglutininas en el suero del paciente y deben correlacionarse con el fenotipo ABO (González F, 2009).

En nuestra legislación, la **NOM-253-SSA1-2012**, explica que se debe hacer cuando se vayan a transfundir unidades con eritrocitos, se deberá identificar o en su caso ratificar el grupo ABO y Rh en una muestra del receptor mediante prueba directa e inversa, asimismo se ratificará el grupo ABO y Rh con una muestra tomada directamente de la unidad mediante una prueba directa. Tratándose de unidades de plasma se deberá ratificar el grupo ABO de la unidad mediante una prueba inversa.

La metodología de las pruebas pretransfusionales de compatibilidad varía según los recursos del servicio de transfusión y la urgencia del caso, aunque de acuerdo con la norma oficial mexicana siempre debe incluirse la técnica de la antiglobulina humana como mínimo (Bonilla R, 2005). En ocasiones de emergencia se opta por transfundir sangre con grupo sanguíneo O, Rh negativo.

Antes de realizar cualquier prueba es muy importante tener un excelente control de calidad para obtener resultados confiables y seguros: en cuanto al material de vidrio, éste debe lavarse perfectamente con un detergente neutro, no debe contener residuos de jabón ya que pueden obtenerse falsos negativos o se puede interpretar una reacción hemolítica donde no la hay; es importante procurar no utilizar tubos rayados y deteriorados siempre hacer control del material de vidrio. De igual forma, es necesario el control de reactivos; es recomendable lavar las células previamente tres veces con solución salina isotónica a 0.9% (Bonilla R, 2005).

OBJETIVO.

Que el alumno comprenda el fundamento de las pruebas cruzadas empleadas en banco de sangre cuando se necesita realizar una transfusión, utilizando la técnica de la antiglobulina humana indirecta y de esta manera, saber si un hemocomponente es o no compatible con el receptor.

MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS.

MATERIAL.

Tubos de ensaye de 12x75 mm.
Tubos al vacío (tapón rojo o lila).
Material necesario para realizar una venopunción por sistema al vacío.

Gradilla para tubos de ensaye.
Pipetas Pasteur.
Papel parafilm.



**EQUIPO.**

Centrífuga clínica.
Balanza granataria.

REACTIVOS.

Solución salina fisiológica.
Suero de Coombs.
Vial con albumina bovina al 22%
Células control de Coombs.
Hipoclorito de sodio.
Solución Salina Fisiológica.

CONTENIDO.

15.1 PRUEBAZ CRUZADAS.

Fundamento:

La prueba mayor permite demostrar la presencia o ausencia de anticuerpos regulares o irregulares en el suero del receptor contra antígenos presentes en los eritrocitos del donante. Por el contrario, **la prueba menor** permite demostrar la presencia o ausencia de anticuerpos regulares e irregulares en el suero del donante contra antígenos presentes en los eritrocitos del receptor. Finalmente, el **autotestigo**, en la realización de las pruebas mayor y menor, se utiliza para observar, la presencia de los anticuerpos aglutinantes unidos a los eritrocitos del receptor, en el autotestigo se colocar suero o plasma y eritrocitos del receptor (NOM-253-SSA1-2012. Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos).

Técnica.

- I. Obtener una muestra sanguínea coagulada, mediante la técnica de sistema al vacío. Dejar que coagule la muestra aproximadamente 20 minutos.
- II. Centrifugar la muestra a 3400 rpm durante 5 minutos.
- III. Identificar dos tubos ensaye de 12x75 mm, uno como suero y otro como eritrocitos.
- IV. Separar el suero con ayuda de la pipeta Pasteur y ponerlo en el tubo de ensaye previamente identificado.
- V. Separar los eritrocitos, tomando un poco a partir del pellet y ponerlos en el tubo de ensaye previamente identificado.
- VI. Hacer tres lavados a las células con SSF
- VII. Preparar una suspensión de eritrocitos del 2-5% a partir de los eritrocitos lavados.

Técnica para MEDIO SALINO.

- I. Identificar tres tubos de ensaye con marcador indeleble, como Prueba mayor, prueba menor y autotestigo.
- II. Agregar a cada tubo las siguientes gotas:

Componente sanguíneo	Tubo de la Prueba Mayor	Tubo de la Prueba Menor	Tubo de Autotestigo
Suero del receptor	2 gotas	-----	2 gotas
Suspensión eritrocitos del 2-5% del receptor	-----	1 gota	1 gota
Plasma del donante	-----	2 gotas	----



Suspensión eritrocitos
del 2-5% del donante

1 gota

- III. Mezclar y centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos.
- IV. Se debe resuspender el botón con mucho cuidado.
- V. Observar si hay aglutinación o hemolisis e interpretar el grado de aglutinación conforme a la siguiente tabla.
- VI. En este caso no deberá existir hemolisis en el autotestigo, en caso contrario se debe repetir el procedimiento

Tabla 35. Interpretación del grado de aglutinación

Intensidad de la aglutinación	Puntaje
Agregado grande	4+
Agregados grandes y se observan agregados más pequeños	3+
Agregados pequeños	2+
Los agregados casi no se observan pero existen muy pocos	1+
No hay agregados (sin aglutinación)	Negativo

Actividad: anotar en la tabla número 37, dentro del apartado correspondiente de **resultados**, el grado de aglutinación que presento cada tubo en cruces de acuerdo a la tabla número 35.

- VII. Incubar a 37°C durante 60 minutos.
- VIII. Una vez transcurrido el tiempo de incubación, mezclar cuidadosamente todos los tubos y centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos.
- IX. Se debe resuspender el botón con mucho cuidado
- X. Leer aglutinación y/o hemolisis en un fondo bien iluminado.

Actividad: anotar en la tabla número 37, dentro del apartado correspondiente de **resultados**, el grado de aglutinación que presento cada tubo en cruces de acuerdo a la tabla número 35.

- XI. Si las lecturas son menores a 2+ o negativas, proceder de la siguiente manera.
- XII. Lavar tres veces los tubos con SSF.
- XIII. Adicionar a cada tubo 2 gotas del suero de Coombs.
- XIV. Mezclar todos los tubos cuidadosamente y centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos.
- XV. Leer aglutinación y/o hemolisis en un fondo bien iluminado.

Actividad: anotar en la tabla número 37, dentro del apartado correspondiente de **resultados**, el grado de aglutinación que presento cada tubo en cruces de acuerdo a la tabla número 35.

- XVI. Si los resultados fueron negativos, proceder de la siguiente manera.
- XVII. Agregar 1 gota de eritrocitos sensibilizados a cada uno de los tubos.
- XVIII. Mezclar cuidadosamente y centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos.
- XIX. Leer aglutinación en un fondo bien iluminado.





Actividad: anotar en la tabla número 37, dentro del apartado correspondiente de **resultados**, el grado de aglutinación que presento cada tubo en cruces de acuerdo a la tabla número 35.

Significado clínico: cuando no se observa aglutinación o hemólisis en el tubo de la prueba mayor, se acepta como compatible la unidad donada del concentrado eritrocitario. Cuando esto ocurre en el tubo de la prueba menor, se acepta como compatible el plasma de la unidad donada. No siempre cuando hay aglutinación o hemólisis significa que el procedimiento este incorrecto, porque puede haber pacientes que contengan autoanticuerpos sensibilizando sus propios eritrocitos.

Técnica para MEDIO PROTEICO.

- I. Identificar tres tubos de ensaye con marcador indeleble, como Prueba mayor, prueba menor y autotestigo.
- II. Agregar a cada tubo las siguientes gotas:

Componente sanguíneo	Tubo de la Prueba Mayor	Tubo de la Prueba Menor	Tubo de Autotestigo
Suero del receptor	2 gotas	-----	2 gotas
Suspensión eritrocitos del 2-5% del receptor	-----	1 gota	1 gota
Plasma del donante	-----	2 gotas	----
Suspensión eritrocitos del 2-5% del donante	1 gota	-----	----
Albumina bovina al 22%	2 gotas	2 gotas	2 gotas

- III. Mezclar y centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos.
- IV. Se debe resuspender el botón con mucho cuidado.
- V. Observar si hay aglutinación o hemólisis
- VI. En este caso no deberá existir hemólisis en el autotestigo, en caso contrario se debe repetir el procedimiento

Actividad: anotar en la tabla número 38, dentro del apartado correspondiente de **resultados**, el grado de aglutinación que presento cada tubo en cruces de acuerdo a la tabla número 35.

- VII. Incubar a 37°C durante 60 minutos.
- VIII. Una vez transcurrido el tiempo de incubación, mezclar cuidadosamente todos los tubos y centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos.
- IX. Se debe resuspender el botón con mucho cuidado
- X. Leer aglutinación y/o hemólisis en un fondo bien iluminado.

Actividad: anotar en la tabla número 38, dentro del apartado correspondiente de **resultados**, el grado de aglutinación que presento cada tubo en cruces de acuerdo a la tabla número 35.

- XI. Si las lecturas son menores a 2+ o negativas, proceder de la siguiente manera.
- XII. Lavar tres veces los tubos con SSF.
- XIII. Adicionar a cada tubo 2 gotas del suero de Coombs.





- XIV. Mezclar todos los tubos cuidadosamente y centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos.
 XV. Leer aglutinación y/o hemolisis en un fondo bien iluminado.

Actividad: anotar en la tabla número 38, dentro del apartado correspondiente de **resultados**, el grado de aglutinación que presento cada tubo en cruces de acuerdo a la tabla número 35.

- XVI. Si los resultados fueron negativos, proceder de la siguiente manera.
 XVII. Agregar 1 gota de eritrocitos sensibilizados a cada uno de los tubos.
 XVIII. Mezclar cuidadosamente y centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos.
 XIX. Leer aglutinación en un fondo bien iluminado.

Actividad: anotar en la tabla número 38, dentro del apartado correspondiente de **resultados**, el grado de aglutinación que presento cada tubo en cruces de acuerdo a la tabla número 35.

RESULTADOS.

Datos del paciente.

Nombre: _____

Edad: _____

Género: _____

Fecha: _____

Tabla 36. grupo sanguíneo del donante y receptor.

Grupo sanguíneo del donador	
Grupo sanguíneo del paciente	

Tabla 37. Resultados de las pruebas cruzadas. Técnica salina en tubo.

Presencia o ausencia de aglutinación y puntaje					
	Técnica rápida	Incubación a 22°C	Incubación a 37°C	Prueba de Coombs	Eritrocitos sensibilizados
Prueba cruzada Mayor					
Prueba cruzada menor					
Autotestigo					





Tabla 38. Resultados de las pruebas cruzadas. Técnica albumina en tubo.

Presencia o ausencia de aglutinación y puntaje					
	Técnica rápida	Incubación a 22°C	Incubación a 37°C	Prueba de Coombs	Eritrocitos sensibilizados
Prueba cruzada Mayor					
Prueba cruzada menor					
Autotestigo					

BIBLIOGRAFÍA

- Bonilla R. (2005). Pruebas pretransfusionales. Revista médica del instituto del seguro social. 43(1).
- Castillo R, et al., (2015). Manual de técnicas de Inmunohematología. México: LICON.
- Dueñas V. (2003). El bando de sangre. Cali, Colombia: Universidad del Valle.
- González F. (2009). Geriatria. México: McGraw-Hill Educación.
- NOM-253-SSA1-2012. Para la disposición de sangre y sus componentes para fines terapéuticos.

MANEJO DE RESIDUOS

Papel, servitoallas, torundas con poca sangre o con alcohol (no empapadas).

Desechar en la basura municipal.

Punzocortantes, material de vidrio con sangre.

Contenedor rígido rojo.

Tubos vacutainer con sangre.

Desechar en bolsas rojas de polipropileno.

Tubos con muestras biológicas (coágulos, suero o plasma).

Desechar en palanganas con hipoclorito de sodio al 1%

Desechos con soluciones de reacción.

Desecharlos en contenedores con hipoclorito de sodio al 1%

ESQUEMAS PARA LA TÉCNICA DE PRUEBAS CRUZADAS.

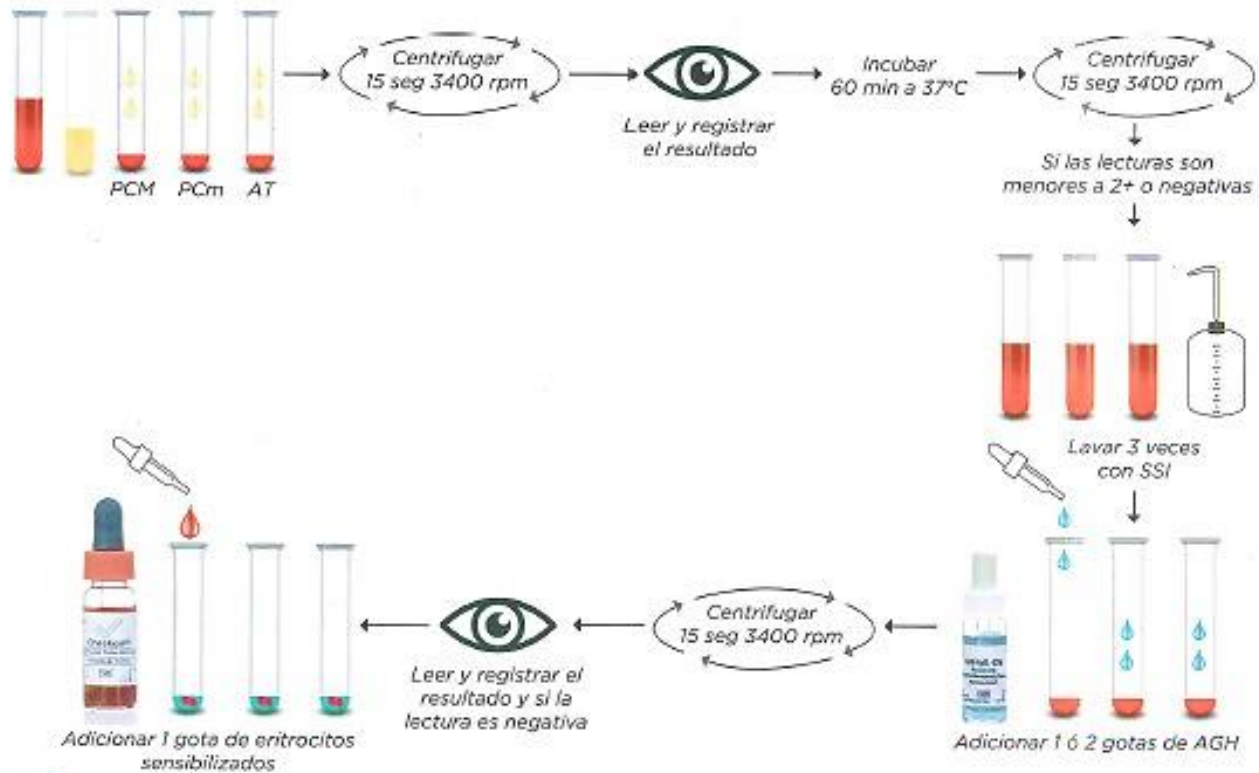


Imagen 58. Técnica para pruebas cruzadas, fase salina. (Castillo R, et al., 2015).

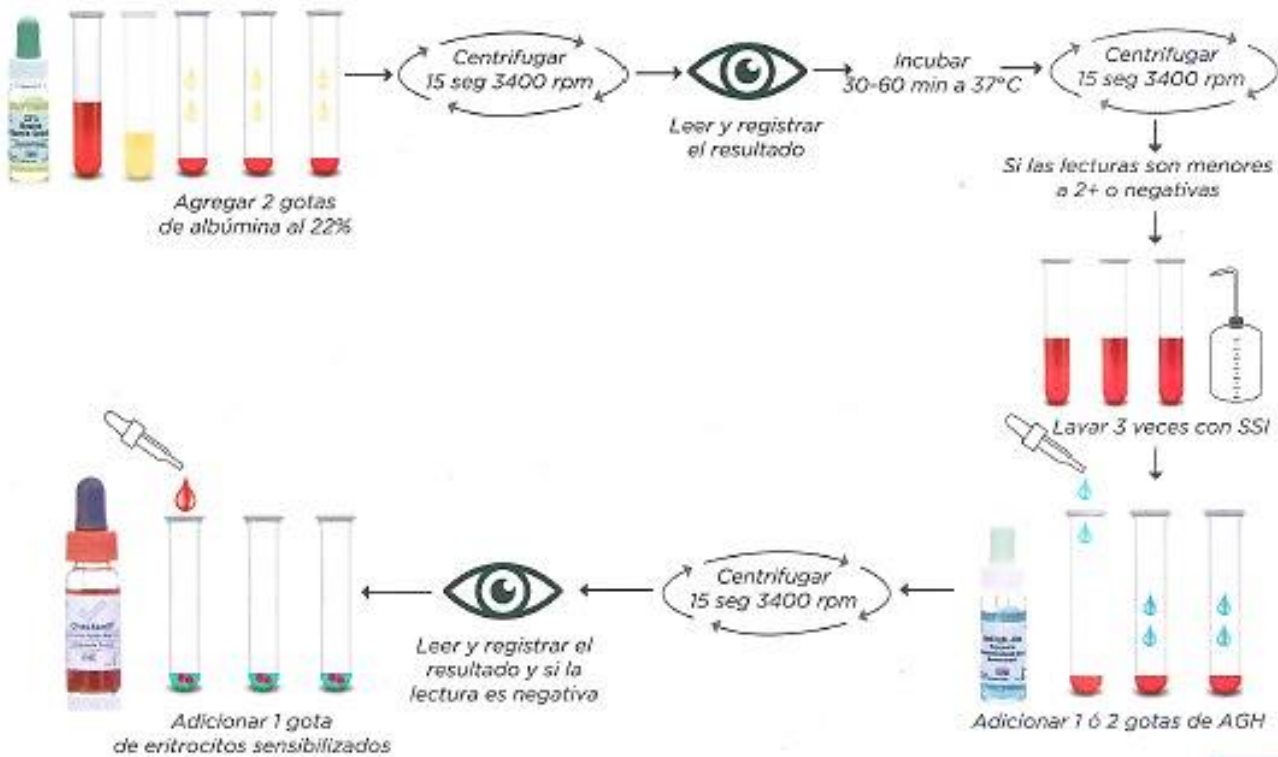


Imagen 59. Técnica para pruebas cruzadas, fase albúmina. (Castillo R, et al., 2015).



Práctica No. 16

Rastreo de anticuerpos irregulares.**INTRODUCCIÓN.**

Aunque los sistemas sanguíneos ABO son los más conocidos e inmunogénicos, no son los únicos, existen otros tipos de sistemas de grupos sanguíneos que presentan igualmente anticuerpos conocidos que pueden originar interacciones y problemas a la hora de realizar las transfusiones. Estos anticuerpos son conocidos como **anticuerpos irregulares** por presentarse en cantidades muy pequeñas y tener que buscarlos de forma específica. Estos anticuerpos aumentan con el número de transfusiones que se le realizan al paciente, por esta razón en pacientes que presentan enfermedades que les obliga a transfundirse de forma periódica debe siempre ser buscados (también llamados pacientes politransfundidos) (Silva M, García M. 2004).

Los anticuerpos, pueden aparecer además de la transfusión o por trasplantes de órganos, por incompatibilidad materno-fetal o sin un estímulo identificable. En algunos casos, su presencia se asocia a la exposición a antígenos ambientales, bacterianos o virales de características bioquímicas similares a los antígenos eritrocitarios. Estos anticuerpos son capaces de provocar hemólisis *in vivo* y acortamiento en la supervivencia normal de los glóbulos rojos (Aburto A, 2014).

Estos anticuerpos se encuentran con poca frecuencia en el plasma. Normalmente son anticuerpos calientes, que actúan solamente a temperatura corporal y deben ser detectados en el laboratorio a 37°C. Para detectar estos anticuerpos se realiza la prueba indirecta de la antiglobulina (Coombs indirecto). En el laboratorio, el procedimiento consiste en poner en contacto el suero del receptor con hematíes reactivos (que expresan los antígenos más habituales de los grupos sanguíneos). A ser posible estos hematíes serán homocigotos, evitando así que sean poco reactivos y nos den falsos negativos (Silva M, et al., 2006).

Estos anticuerpos tienen una relevante importancia clínica ya que se les asocia con reacciones transfusionales de intensidad moderada a severa, que pueden ocasionar la muerte; además, son causantes de enfermedad hemolítica en el recién nacido, quien en ocasiones requiere exanguinotransfusión (Luna J, 2005). Los anticuerpos irregulares más conocidos son: Rh-Hr, Duffy, Kidd, Kell, y Diego.

OBJETIVO.

El alumno realizará el rastreo de anticuerpos irregulares de un suero problema empleando la técnica de tubo en fase salina y albumina, mediante la utilización de un semipanel de células conocidas, para que el técnico desarrolle habilidades y destrezas en su ejercicio profesional en el banco de sangre.

MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS.**MATERIAL.**

Material necesario para realizar la venopunción por sistema al vacío.
Tubos al vacío de tampón rojo o lila.
Gradilla para tubos de ensaye.
Tubos de ensaye de 12x75 mm.

Pipetas Pasteur.
Piseta.

EQUIPO.

Centrífuga clínica.
Baño María.



**REACTIVOS.**

Suero de Coombs.
 Vial con albumina bovina al 22%
 Células control de Coombs.
 Semipanel de células rojas.

CONTENIDO.

16.1 RASTREO DE ANTICUERPOS IRREGULARES. TÉCNICA EN SALINA.

Nota: los viales del semipanel para el rastreo de anticuerpos irregulares, pueden venir en presentación de suspensión eritrocitaria ya establecida por el fabricante, o únicamente los viales con las células conocidas, en este último caso se deberá preparar la suspensión previa de cada uno de los viales del 2-5%

- I. Realizar una venopunción por la técnica de sistema al vacío, para obtener un tubo de sangre completa coagulada (tubo de tapón rojo). Dejar que coagule 10 minutos.
- II. Centrifugar la muestra a 3500 rpm durante 10 minutos.
- III. Separar el suero del paciente en un tubo limpio etiquetado como "suero".
- IV. Realizar una suspensión de eritrocitos del 2-5% con un previo lavado con SSF.
- V. El semipanel para la identificación de anticuerpos irregulares puede contener 2 o 3 viales de las células conocidas. Numerar tubos de ensaye de 12x75mm, conforme al número que tiene el vial de glóbulos rojos del semipanel, agregar un tubo extra para el autotestigo.
- VI. Agregar a todos los tubos, incluyendo el autotestigo, con pipeta Pasteur dos gotas de suero en estudio.
- VII. Colocar en cada tubo una gota de la suspensión de glóbulos rojos del correspondiente vial del semipanel, según corresponda.
- VIII. En el tubo identificado como autotestigo, colocar 1 gota de suspensión eritrocitaria del 2 al 5% del paciente.
- IX. Mezclar cuidadosamente todos los tubos y centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos.
- X. Leer aglutinación y/o hemolisis en cada tubo en un fondo bien iluminado, conforme a la siguiente tabla.

Tabla 39. Interpretación del grado de aglutinación.

Intensidad de la aglutinación	Puntaje
Agregado grande	4+
Agregados grandes y se observan agregados más pequeños	3+
Agregados pequeños	2+
Los agregados casi no se observan pero existen muy pocos	1+
No hay agregados (sin aglutinación)	Negativo

Actividad: anotar en la tabla número 40, dentro del apartado correspondiente de **resultados**, el grado de aglutinación que presento cada tubo en cruces de acuerdo a la tabla anterior.



Continuar, para la identificación de anticuerpos fríos, de la siguiente manera:

- XI. Incubar todos los tubos a 22°C durante 30 minutos.
- XII. Una vez terminado el tiempo de incubación, mezclar cuidadosamente todos los tubos y centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos.
- XIII. Leer aglutinación y/o hemolisis en un fondo bien iluminado.

Actividad: anotar en la tabla número 40, dentro del apartado correspondiente de **resultados**, el grado de aglutinación que presento cada tubo en cruces de acuerdo a la tabla número 39.

Continuar para la identificación de anticuerpos calientes, de la siguiente manera:

- XIV. Incubar todos los tubos a 37°C de 60 minutos.
- XV. Una vez transcurrido el tiempo de incubación, mezclar cuidadosamente todos los tubos y centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos.
- XVI. Leer aglutinación y/o hemolisis en un fondo bien iluminado.

Actividad: anotar en la tabla número 40, dentro del apartado correspondiente de **resultados**, el grado de aglutinación que presento cada tubo en cruces de acuerdo a la tabla número 39.

- XVII. Si las lecturas son menores a 2+ o negativas, proceder de la siguiente manera.
- XVIII. Lavar tres veces los tubos con SSF.
- XIX. Adicionar a cada tubo 2 gotas del suero de Coombs.
- XX. Mezclar todos los tubos cuidadosamente y centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos.
- XXI. Leer aglutinación y/o hemolisis en un fondo bien iluminado.

Actividad: anotar en la tabla número 40, dentro del apartado correspondiente de **resultados**, el grado de aglutinación que presento cada tubo en cruces de acuerdo a la tabla número 39.

- XXII. Si los resultados fueron negativos, proceder de la siguiente manera.
- XXIII. Agregar 1 gota de eritrocitos sensibilizados a cada uno de los tubos.
- XXIV. Mezclar cuidadosamente y centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos.
- XXV. Leer aglutinación en un fondo bien iluminado.

Actividad: anotar en la tabla número 40, dentro del apartado correspondiente de **resultados**, el grado de aglutinación que presento cada tubo en cruces de acuerdo a la tabla número 39.

- XXVI. Si los resultados fueron negativos, proceder de la siguiente manera.
- XXVII. Agregar 1 gota de eritrocitos sensibilizados a cada uno de los tubos.
- XXVIII. Mezclar cuidadosamente y centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos.
- XXIX. Leer aglutinación en un fondo bien iluminado.

Actividad: anotar en la tabla número 40, dentro del apartado correspondiente de **resultados**, el grado de aglutinación que presento cada tubo en cruces de acuerdo a la tabla número 39.

16.2 RASTREO DE ANTICUERPOS IRREGULARES. TÉCNICA EN ALBÚMINA.

- I. Realizar una suspensión de eritrocitos del 2-5% con un previo lavado con SSF.
- II. Separar el plasma del paciente en un tubo limpio etiquetado como "suero".



- III. El semipanel para la identificación de anticuerpos irregulares puede contener 2 o 3 viales de las células conocidas. Numerar tubos de ensaye de 12x75mm, conforme al número que tiene el vial de glóbulos rojos del semipanel, agregar un tubo extra para el autocontrol.
- IV. Agregar a todos los tubos, incluyendo el autocontrol, con pipeta Pasteur dos gotas de suero en estudio.
- V. Colocar en cada tubo una gota de la suspensión de glóbulos rojos del correspondiente vial del semipanel, según corresponda.
- VI. Adicionar 2 gotas albumina bovina al 22%.
- VII. En el tubo identificado como autocontrol, colocar 1 gota de suspensión eritrocitaria del 2 al 5% del paciente.
- VIII. Mezclar cuidadosamente todos los tubos y centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos.
- IX. Leer aglutinación y/o hemolisis en cada tubo en un fondo bien iluminado,

Actividad: anotar en la tabla número 41, dentro del apartado correspondiente de **resultados**, el grado de aglutinación que presento cada tubo en cruces de acuerdo a la tabla número 39.

- X. Incubar todos los tubos a 37°C de 30 minutos.
- XI. Una vez transcurrido el tiempo de incubación, mezclar cuidadosamente todos los tubos y centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos.
- XII. Leer aglutinación y/o hemolisis en un fondo bien iluminado.

Actividad: anotar en la tabla número 41, dentro del apartado correspondiente de **resultados**, el grado de aglutinación que presento cada tubo en cruces de acuerdo a la tabla número 39.

- XIII. Si las lecturas son menores a 2+ o negativas, proceder de la siguiente manera.
- XIV. Lavar tres veces los tubos con SSF.
- XV. Adicionar a cada tubo 2 gotas del suero de Coombs.
- XVI. Mezclar todos los tubos cuidadosamente y centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos.
- XVII. Leer aglutinación y/o hemolisis en un fondo bien iluminado.

Actividad: anotar en la tabla número 41, dentro del apartado correspondiente de **resultados**, el grado de aglutinación que presento cada tubo en cruces de acuerdo a la tabla número 39.

- XVIII. Si los resultados fueron negativos, proceder de la siguiente manera.
- XIX. Agregar 1 gota de eritrocitos sensibilizados a cada uno de los tubos.
- XX. Mezclar cuidadosamente y centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos.
- XXI. Leer aglutinación en un fondo bien iluminado.

Actividad: anotar en la tabla número 41, dentro del apartado correspondiente de **resultados**, el grado de aglutinación que presento cada tubo en cruces de acuerdo a la tabla número 39.

Interpretación de resultados: la presencia de aglutinación utilizando las células del semipanel, indica que el suero o plasma del paciente contiene anticuerpos irregulares, pero aún no se conoce de que clase, tentativamente se puede asumir si son anticuerpos fríos o calientes. Para reconocer específicamente el anticuerpo, se debe de hacer una plena identificación, utilizando un panel de células.



RESULTADOS.

Tabla 40. Resultados del rastreo de anticuerpos irregulares. Técnica salina en tubo.

Presencia o ausencia de aglutinación y puntaje					
	Técnica rápida	Incubación a 22°C	Incubación a 37°C	Prueba de Coombs	Eritrocitos sensibilizados
Células I					
Células II					
Autotestigo					

Tabla 41. Resultados del rastreo de anticuerpos irregulares. Técnica de albumina en tubo.

Presencia o ausencia de aglutinación y puntaje					
	Técnica rápida	Incubación a 22°C	Incubación a 37°C	Prueba de Coombs	Eritrocitos sensibilizados
Células I					
Células II					
Autotestigo					

BIBLIOGRAFÍA.

- Aronson C, et al., (2012). Manual técnico de la Asociación Americana de Bancos de Sangre. Buenos aires, Argentina: Asociación argentina de hemoterapia e Inmunohematología.
- Aburto A. (2014). Recomendaciones para la detección e identificación de anticuerpos irregulares eritrocitarios. Chile: Instituto de Salud Pública.
- Castillo R, et al., (2015). Manual de técnicas de Inmunohematología. México: LICON.
- Luna J. (2005). Anticuerpos irregulares, su importancia en medicina transfusional. Revista médica del instituto mexicano del seguro social. 43(1).
- Romero T. (2010). Manual de técnicas y procedimientos en bancos de sangre. México: Prado, S.A. de C.V.
- Silva M, García M. (2004). Manual del técnico superior de laboratorio de análisis clínico. España: MAD.
- Silva M, et al. (2006). Técnico especialista en laboratorio de atención primaria del instituto catan de la salud. España: MAD.



MANEJO DE RESIDUOS

Papel, servitoallas, torundas con poca sangre o con alcohol (no empapadas).

Desechar en la basura municipal.

Punzocortantes, material de vidrio con sangre.

Contenedor rígido rojo.

Tubos vacutainer con sangre.

Desechar en bolsas rojas de polipropileno.

Tubos con muestras biológicas (coágulos, suero o plasma).

Desechar en palanganas con hipoclorito de sodio al 1%

Desechos con soluciones de reacción.

Desecharlos en contenedores con hipoclorito de sodio al 1%





ESQUEMAS PARA EL RASTRO DE ANTICUERPOS IRREGULARES.



Imagen 60. Técnica para el rastreo de anticuerpos irregulares, fase salina. (Castillo R, et al., 2015).



Imagen 61. Técnica para el rastreo de anticuerpos irregulares, fase albúmina. (Castillo R, et al., 2015).



Práctica No. 17

Identificación de anticuerpos irregulares.**INTRODUCCIÓN.**

La Asociación Internacional de Transfusión de Sangre reconoce 328 antígenos específicos, 284 de los cuales pertenecen a alguno de los 30 sistemas de grupos sanguíneos. Cada sistema representa uno, dos o tres genes homólogos cercanamente ligados. El grupo ABO y factor Rh son los más conocidos y clínicamente los sistemas más importantes. El aspecto más importante de los grupos sanguíneos en medicina transfusional es si sus anticuerpos correspondientes son hemolíticos y por lo tanto tienen la potencialidad de causar reacciones hemolíticas postransfusionales (RHPT) y enfermedad hemolítica feto-neonatal (EHFN) (Aronson C, et al., 2012).

El sistema de grupo sanguíneo Lewis consiste en dos antígenos principales, Le^a y Le^b. Además de estar presente en los glóbulos rojos, los antígenos Lewis se expresan en plaquetas, endotelio, riñón, y también en los epitelios genitourinario y gastrointestinal. Los antígenos Lewis no son sintetizados por los glóbulos rojos, sino que son adsorbidos pasivamente en las membranas eritrocitarias a partir de una mezcla plasmática de glicolípidos solubles, con la estructura del antígeno Lewis. Debido a que los antígenos Lewis son adsorbidos pasivamente en las membranas eritrocitarias, estos antígenos pueden eluirse de los glóbulos rojos después de una transfusión o frente al incremento del volumen plasmático de lipoproteínas circulantes, las cuales también adsorben los glicolípidos Lewis. Los anticuerpos contra los antígenos Lewis son en general IgM, naturales y aglutininas reactivas en medio salino y a temperatura ambiente, su aglutinación, a diferencia del sistema ABO, es relativamente frágil y se dispersa fácilmente. Estos anticuerpos no son considerados clínicamente significativos. Cuando la prueba de compatibilidad es no reactiva a 37°C independientemente del fenotipo Lewis, es esperable que los glóbulos rojos transfundidos tengan una sobrevivencia postransfusional normal *in vivo*. A diferencia de los antígenos del sistema ABO, los antígenos Lewis pueden ser eluidos fácilmente y se desprenden de los glóbulos rojos transfundidos a pocos días luego de la transfusión. Asimismo, los antígenos Lewis presentes en el plasma transfundido pueden neutralizar los anticuerpos Lewis del receptor. Por estas razones, la hemólisis es rara luego de la transfusión de glóbulos rojos Lewis (Aronson C, et al., 2012).

Los antígenos I e i son ubicuos, están estructuralmente relacionados y están presentes en todas las membranas celulares. Se reconocen dos fenotipos en base a la presencia o ausencia del antígeno I: el fenotipo I y el fenotipo i (I-). El fenotipo i es característico de los glóbulos rojos fetales y neonatales. El fenotipo I+ es un fenotipo común en los glóbulos rojos adultos. Con el aumento de la edad, existe un incremento gradual en el antígeno I, acompañado por una disminución recíproca en el antígeno i. el anticuerpo anti-I es un anticuerpo común, presente en el suero de individuos sanos. El anti-I es generalmente una IgM, que reacciona mejor a 4°C con títulos menores a 1/64. El anti-I se identifica por fuertes reacciones con glóbulos rojos adultos, pero reacciones débiles o sin aglutinación con eritrocitos del cordón umbilical. El anticuerpo anti-I puede intensificarse mediante incubación a 4°C, por la presencia de albumina, o utilizando glóbulos rojos tratados con enzimas. El autoanti-i es una aglutinina fría poco frecuente en el suero. El anti-i, similar al anti-I, es principalmente IgM, que reacciona débilmente entre temperaturas de 4-10°C. el autoanti-I puede interferir con las pruebas de tipificación ABO, con el tamizaje de anticuerpos y las pruebas de compatibilidad pretransfusional (Aronson C, et al., 2012).





El primer antígeno del sistema de grupo sanguíneo P fue descubierto por Landsteiner y Levine en 1927. Originalmente el antígeno fue llamado P, y tiempo después se cambió su nombre por P1. Es el único antígeno oficialmente asignado al sistema **de grupo sanguíneo P**. Los antígenos P, P^k, y LKE, que previamente eran considerados parte del sistema P, actualmente están asignados a una serie de antígenos "colección GLOB, P1PK y 028". Los antígenos P^k y P son antígenos de alta incidencia expresados en casi todos los glóbulos rojos. Los eritrocitos son particularmente ricos en antígeno P, lo cual conforma aproximadamente un 6% del total de lípidos eritrocitarios. Generalmente, el anti-P1 es una aglutinina que a temperatura ambiente clínicamente no es significativa. Los pacientes con anti-P1 reactivos solo a temperatura ambiente o por debajo de ella, pueden ser transfundidos con seguridad con glóbulos rojos P1 y con una sobrevida eritrocitaria *in vivo* normal (Aronson C, et al., 2012).

El sistema MNS es grupo sanguíneo altamente complejo que comprende 46 antígenos. Los antígenos M y N (así detectados por la mayoría de los reactivos anti-N) son antígenos antitéticos y polimórficos en todas las poblaciones estudiadas. Los S y s son otro par de antígenos antitéticos polimórficos del sistema MNS. El anti-M es un anticuerpo relativamente común que se presenta naturalmente, mientras que el anti-N es bastante raro. La mayoría de los anti-M y anti-N no son activos a 37°C y tampoco son clínicamente relevantes (Aronson C, et al., 2012).

El antígeno a menudo referido como Kell, pero correctamente denominado K o KEL1, es el antígeno original del sistema Kell y el primer antígeno de grupo sanguíneo identificado después del descubrimiento de la prueba de antiglobulina humana en 1946. **El sistema Kell** agrupa hoy a 32 antígenos numerados desde KEL1 a KELL5. Los anticuerpos anti-Kell son usualmente IgG. El anti-K es el anticuerpo inmune más común fuera de los sistemas ABO y Rh. La prueba de la antiglobulina es usualmente el método de elección para su detección, aunque en algunos casos pueden aglutinar los glóbulos rojos directamente. La mayoría de los anti-K parecen ser inducidos por transfusiones de sangre. Ya que el anti-K puede causar enfermedad hemolítica feto-neonatal severa, es práctica habitual en algunos países el empleo de glóbulos rojos antígenos K negativo para transfundir a niñas y mujeres con posibilidades potenciales de procrear (Aronson C, et al., 2012).

El sistema Duffy oficialmente comprende cinco antígenos que residen sobre una glicoproteína codificada por el gen Duffy y consisten en la presencia de dos antígenos, Fy^a y Fy^b. El anti-Fy^a es un anticuerpo relativamente común; el anti-Fy^b es casi 20 veces menos común de tipo IgG. Se detectan generalmente a través de una prueba de antiglobulina humana. Son muy raros los casos de anticuerpos naturales. Ambos anticuerpos pueden causar Reacción hemolítica postransfusional aguda o tardía. Aunque generalmente son leves, se comprobó que algunos pueden ser fatales. Estos anticuerpos también han sido responsables de enfermedad hemolítica del feto-neonatal, variando el cuadro de leve a severo (Aronson C, et al., 2012).

El sistema Kidd comprende tres antígenos localizados. Los antígenos Jk^a y Jk^b son los productos de alelos, tienen una prevalencia similar en poblaciones caucásicas y asiáticas. Los anticuerpos anti-Jk^a y anti-Jk^b no son comunes y en general se encuentran en suero con mezclas de anticuerpos. Ellos son habitualmente IgG. Los anticuerpos del sistema Kidd son a menudo difíciles de detectar. Algunos aglutinan directamente a las células antígenas positivas, pero con una débil intensidad de reacción de aglutinación. Frecuentemente puede ser necesario emplear la prueba de antiglobulina indirecta para detectar a estos anticuerpos débiles, así como el uso de eritrocitos tratados con enzimas. Estos anticuerpos son peligrosos, ya que pueden causar Reacción hemolítica postransfusional aguda y severa (Aronson C, et al., 2012).





El antígeno Diego original, Di^a, es muy raro en las antiguas poblaciones europeas y africanas, pero tiene una prevalencia del 5% en poblaciones chinas y japonesas y una alta prevalencia en sujetos nativos de América del norte y Sudamérica. Los anticuerpos anti-Di^a y anti-Di^b son generalmente IgG (Aronson C, et al., 2012).

En el banco de sangre, la identificación de anticuerpos irregulares se debe de realizar siempre que en el rastreo sea positivo a la aglutinación. Para su identificación es necesario utilizar un panel de eritrocitos conocidos, que dependiendo del eritrocito donde aglutine el suero o plasma problema, será el anticuerpo irregular.

OBJETIVO

El alumno realizará la identificación de anticuerpos irregulares de un suero problema empleando la técnica de tubo en fase salina y albumina, mediante la utilización de un panel de células conocidas, para que desarrolle habilidades y destrezas en su ejercicio profesional en el banco de sangre.

MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS.

MATERIAL.

Material necesario para realizar la venopunción por sistema al vacío.
Tubos al vacío de tapón lila o rojo.
Gradilla para tubos de ensaye.
Tubos de ensaye de 12x75 mm.
Pipetas Pasteur.
Piseta.

EQUIPO.

Centrífuga clínica.
Baño María.

REACTIVOS.

Suero de Coombs.
Vial con albumina bovina al 22%
Células control de Coombs.
Panel de células rojas para la identificación de anticuerpos irregulares.

CONTENIDO.

17.1 IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS IRREGULARES. TÉCNICA EN SALINA.

Nota: los viales para el rastreo de anticuerpos irregulares pueden venir en presentación de suspensión eritrocitaria ya establecida o únicamente los viales con las células, en este último caso se deberá preparar la suspensión previa de cada uno de los viales del 2-5%

- I. Realizar una venopunción por la técnica de sistema al vacío, para obtener un tubo de sangre completa coagulada (tubo de tapón rojo). Dejar que la muestra coagule 10 minutos.
- II. Centrifugar la muestra a 3500 rpm durante 10 minutos.
- III. Realizar una suspensión de eritrocitos del 2-5% con un previo lavado con SSF.
- IV. Separar el plasma del paciente en un tubo limpio etiquetado como "suero".
- V. El panel para la identificación de anticuerpos irregulares puede contener de 8 a 10 viales de las células conocidas. Numerar tubos de ensaye de 12x75mm, conforme al número que tiene el vial de glóbulos rojos del panel, agregar un tubo extra para el autotestigo.
- VI. Agregar a todos los tubos, incluyendo el autotestigo, con pipeta Pasteur dos gotas de suero en estudio.





- VII. Colocar en cada tubo una gota de la suspensión de glóbulos rojos del correspondiente vial del panel, según corresponda.
- VIII. En el tubo identificado como autotestigo, colocar 1 gota de suspensión eritrocitaria del 2 al 5% del paciente.
- IX. Mezclar cuidadosamente todos los tubos y centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos.
- X. Leer aglutinación y/o hemolisis en cada tubo en un fondo bien iluminado, de acuerdo a la siguiente tabla.

Tabla 42. Interpretación del grado de aglutinación

Intensidad de la aglutinación	Puntaje
Agregado grande	4+
Agregados grandes y se observan agregados más pequeños	3+
Agregados pequeños	2+
Los agregados casi no se observan pero existen muy pocos	1+
No hay agregados (sin aglutinación)	Negativo

Actividad: anotar en la tabla número 43, dentro del apartado correspondiente de **resultados**, el grado de aglutinación que presento cada tubo en cruces de acuerdo a la tabla anterior.

Continuar para la identificación de anticuerpos fríos, de la siguiente manera:

- I. Incubar todos los tubos a 22°C durante 30 minutos.
- II. Una vez terminado el tiempo de incubación, mezclar cuidadosamente todos los tubos y centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos.
- III. Leer aglutinación y/o hemolisis en un fondo bien iluminado.

Actividad: anotar en la tabla número 43, dentro del apartado correspondiente de **resultados**, el grado de aglutinación que presento cada tubo en cruces de acuerdo a la tabla número 42.

Continuar para la identificación de anticuerpos calientes, de la siguiente manera.

- IV. Incubar todos los tubos a 37°C de 60 minutos.
- V. Una vez transcurrido el tiempo de incubación, mezclar cuidadosamente todos los tubos y centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos.
- VI. Leer aglutinación y/o hemolisis en un fondo bien iluminado.

Actividad: anotar en la tabla número 43, dentro del apartado correspondiente de **resultados**, el grado de aglutinación que presento cada tubo en cruces de acuerdo a la tabla número 42.

- VII. Si las lecturas son menores a 2+ o negativas, proceder de la siguiente manera.
- VIII. Lavar tres veces los tubos con SSF.
- IX. Adicionar a cada tubo 2 gotas del suero de Coombs.
- X. Mezclar todos los tubos cuidadosamente y centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos.
- XI. Leer aglutinación y/o hemolisis en un fondo bien iluminado.

Actividad: anotar en la tabla número 43, dentro del apartado correspondiente de **resultados**, el grado de aglutinación que presento cada tubo en cruces de acuerdo a la tabla número 42.





- XXX. Si los resultados fueron negativos, proceder de la siguiente manera.
- XXXI. Agregar 1 gota de eritrocitos sensibilizados a cada uno de los tubos.
- XXXII. Mezclar cuidadosamente y centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos.
- XXXIII. Leer aglutinación en un fondo bien iluminado.

Actividad: anotar en la tabla número 43, dentro del apartado correspondiente de **resultados**, el grado de aglutinación que presento cada tubo en cruces de acuerdo a la tabla número 42.

17.2 IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS IRREGULARES. TÉCNICA EN ALBÚMINA.

- I. Realizar una suspensión de eritrocitos del 2-5% con un previo lavado con SSF.
- II. Separar el suero del paciente en un tubo limpio etiquetado como "suero".
- III. El panel para la identificación de anticuerpos irregulares puede contener 8 a 10 viales de las células conocidas. Numerar tubos de ensaye de 12x75mm, conforme al número que tiene el vial de glóbulos rojos del panel, agregar un tubo extra para el autocontrol.
- IV. Agregar a todos los tubos, incluyendo el autocontrol, con pipeta Pasteur dos gotas de suero en estudio.
- V. Colocar en cada tubo una gota de glóbulos rojos del correspondiente vial del panel, ejemplo: agregar 1 gota del vial identificado como I, al tubo de ensaye etiquetado como I y así sucesivamente, para los demás viales del semipanel.
- VI. Adicionar 2 gotas albumina bovina al 22%.
- VII. En el tubo identificado como autocontrol, colocar 1 gota de suspensión eritrocitaria del 2 al 5% del paciente.
- VIII. Mezclar cuidadosamente todos los tubos y centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos.
- IX. Leer aglutinación y/o hemolisis en cada tubo en un fondo bien iluminado,

Actividad: anotar en la tabla número 44, dentro del apartado correspondiente de **resultados**, el grado de aglutinación que presento cada tubo en cruces de acuerdo a la tabla número 41.

- X. Incubar todos los tubos a 37°C de 50-60 minutos.
- XI. Una vez transcurrido el tiempo de incubación, mezclar cuidadosamente todos los tubos y centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos.
- XII. Leer aglutinación y/o hemolisis en un fondo bien iluminado.

Actividad: anotar en la tabla número 44, dentro del apartado correspondiente de **resultados**, el grado de aglutinación que presento cada tubo en cruces de acuerdo a la tabla número 41.

- XIII. Si las lecturas son menores a 2+ o negativas, proceder de la siguiente manera.
- XIV. Lavar tres veces los tubos con SSF.
- XV. Adicionar a cada tubo 2 gotas del suero de Coombs.
- XVI. Mezclar todos los tubos cuidadosamente y centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos.
- XVII. Leer aglutinación y/o hemolisis en un fondo bien iluminado.

Actividad: anotar en la tabla número 44, dentro del apartado correspondiente de **resultados**, el grado de aglutinación que presento cada tubo en cruces de acuerdo a la tabla número 41.

- XVIII. Si los resultados fueron negativos, proceder de la siguiente manera.
- XIX. Agregar 1 gota de eritrocitos sensibilizados a cada uno de los tubos.
- XX. Mezclar cuidadosamente y centrifugar a 3400 rpm durante 15 segundos.
- XXI. Leer aglutinación en un fondo bien iluminado.





Actividad: anotar en la tabla número 44, dentro del apartado correspondiente de **resultados**, el grado de aglutinación que presento cada tubo en cruces de acuerdo a la tabla número 41.

Interpretación de los resultados: para la identificación de los anticuerpos irregulares en una muestra problema, se debe de utilizar una carta panel, en la cual, dependiendo del tubo de ensaye donde aglutina corresponde a una célula con antígenos conocidos. En este caso, la carta panel presenta la aglutinación con cruces (+) y cuando no aglutina en forma de guiones (-). Es decir, si la muestra aglutina en los tubos 1, 3, 5, 6, y 11, corresponde a los viales 1, 3, 5, 6 y 11 y esa combinación, arroja un resultado sobre el posible antígeno que está aglutinando con los anticuerpos irregulares, presentes en el plasma o suero problema. En la siguiente imagen se observa la carta panel.

Col	Rh					MNS				Kell		P	Lewis		Duffy		Kidd		Col	Resultado			
	D	C	E	c	e	M	N	S	s	K	k	P1	Le ^a	Le ^b	Fy ^a	Fy ^b	JK ^a	JK ^b		TA	37C	AHG	CC
1 R ₁ R ₁	+	+	0	0	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	+	+	0	+	1			0	ū
2 R ₁ R ₁	+	+	0	0	+	+	+	+	0	0	+	+	0	0	0	0	+	0	2			2+	
3 R ₂ R ₂	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	0	+	+	+	3			0	ū
4 r ^r	0	+	0	+	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	0	4			2+	
5 r ^r	0	0	+	+	+	0	+	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	5			2+	
6 rr	0	0	0	+	+	+	0	+	0	+	+	+	0	+	+	0	0	+	6			2+	
7 rr	0	0	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+	0	+	0	+	+	0	7			2+	
8 R _y r	+	0	0	+	+	0	+	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	+	8			0	ū
9 rr	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	9			2+	
10 rr	0	0	0	+	+	+	0	0	+	+	+	+	0	0	0	+	+	0	10			0	ū
11 R ₁ R ₁	+	+	0	0	+	+	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	0	+	11			0	ū
PA																			PA				

Imagen 62. Carta panel para identificación de anticuerpos irregulares. La columna número 1 corresponde a el vial de identificación número 1 y así, respectivamente, hasta la columna 11. Las (+) significan aglutinación positiva, mientras que (-) significa sin aglutinación. En este caso la combinación tiene dos posibles identificaciones de anticuerpos irregulares: el **antígeno S** (del grupo sanguíneo MNS, y **el antígeno K** (del grupo sanguíneo Kell), conforme al resultado de la aglutinación observada. Aburto A, 2014.



RESULTADOS.

Tabla 43. Resultados para la identificación de anticuerpos irregulares. Técnica salina en tubo.

Presencia o ausencia de aglutinación y puntaje					
Vial	Técnica rápida	Incubación a 22°C	Incubación a 37°C	Prueba de Coombs	Eritrocitos sensibilizados
1					
2					
3					
4					
5					
6					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
AUTOTESTIGO					

Tabla 44. Resultados para la identificación de anticuerpos irregulares. Técnica de albúmina en tubo.

Presencia o ausencia de aglutinación y puntaje					
	Técnica rápida	Incubación a 22°C	Incubación a 37°C	Prueba de Coombs	Eritrocitos sensibilizados
1					
2					
3					
4					
5					
6					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
AUTOTESTIGO					

Tipo de anticuerpo irregular identificado: _____



Nota: Para su reporte, debe Anexar la hoja panel, las aglutinaciones deben de coincidir con la tabla de resultados.

BIBLIOGRAFÍA.

- Aronson C, et al., (2012). Manual técnico de la Asociación Americana de Bancos de Sangre. Buenos aires, Argentina: Asociación argentina de hemoterapia e Inmunohematología.
- Aburto A. (2014). Recomendaciones para la detección e identificación de anticuerpos irregulares eritrocitarios. Chile: Instituto de Salud Pública.
- LICON. (2015). Manual de técnicas de Inmunohematología. México: LICON.
- Luna J. (2005). Anticuerpos irregulares, su importancia en medicina transfusional. Revista médica del instituto mexicano del seguro social. 43(1).
- Romero T. 2010. Manual de técnicas y procedimientos en bancos de sangre. México: Prado, S.A. de C.V.

ESQUEMAS PARA LA IDENTIFICACION DE ANTICUERPOS IRREGULARES.

Identificación de Anticuerpos Irregulares

Técnica Salina

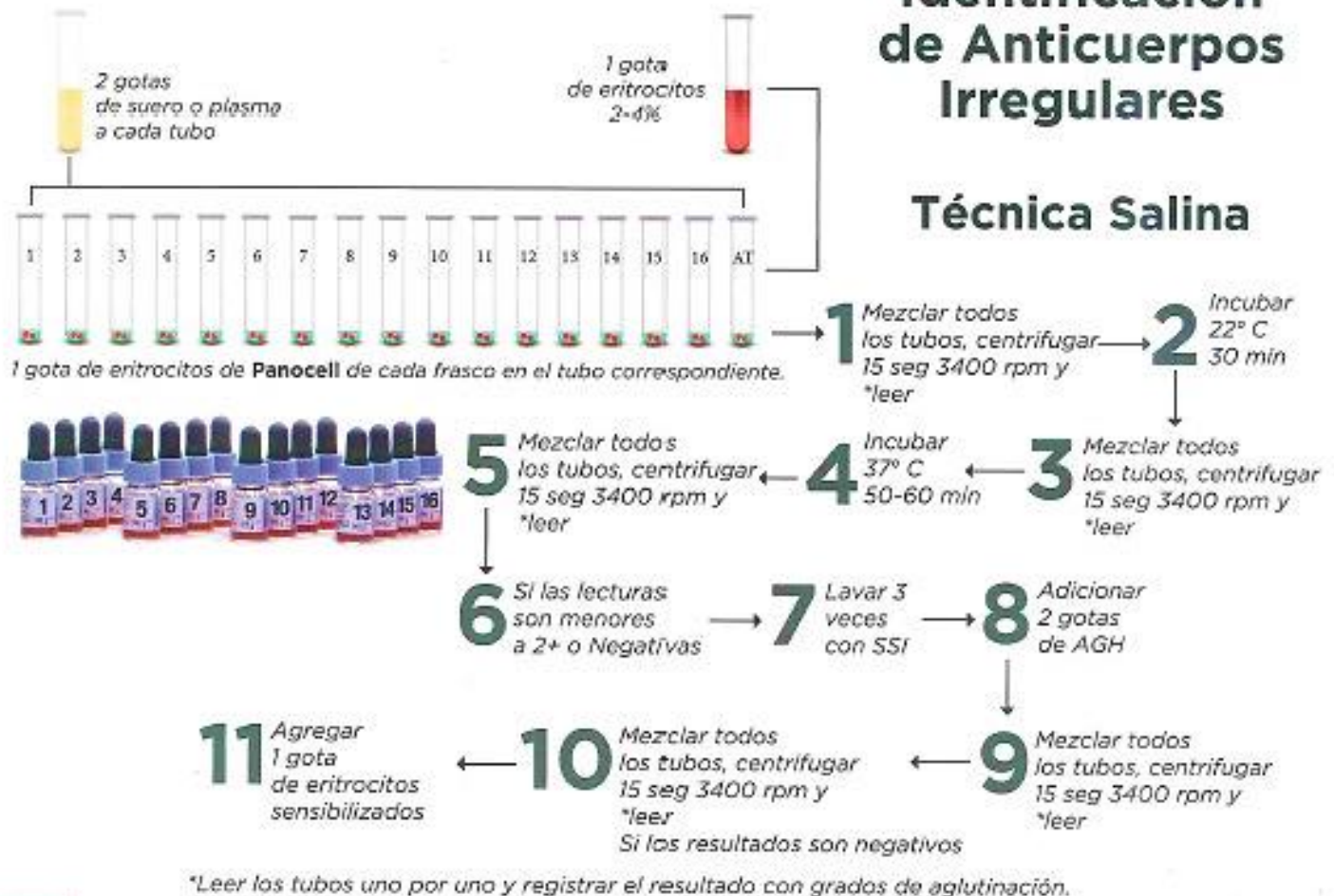


Imagen 63. Técnica para la identificación de anticuerpos irregulares. Fase salina. (Castillo R, et al., 2015).

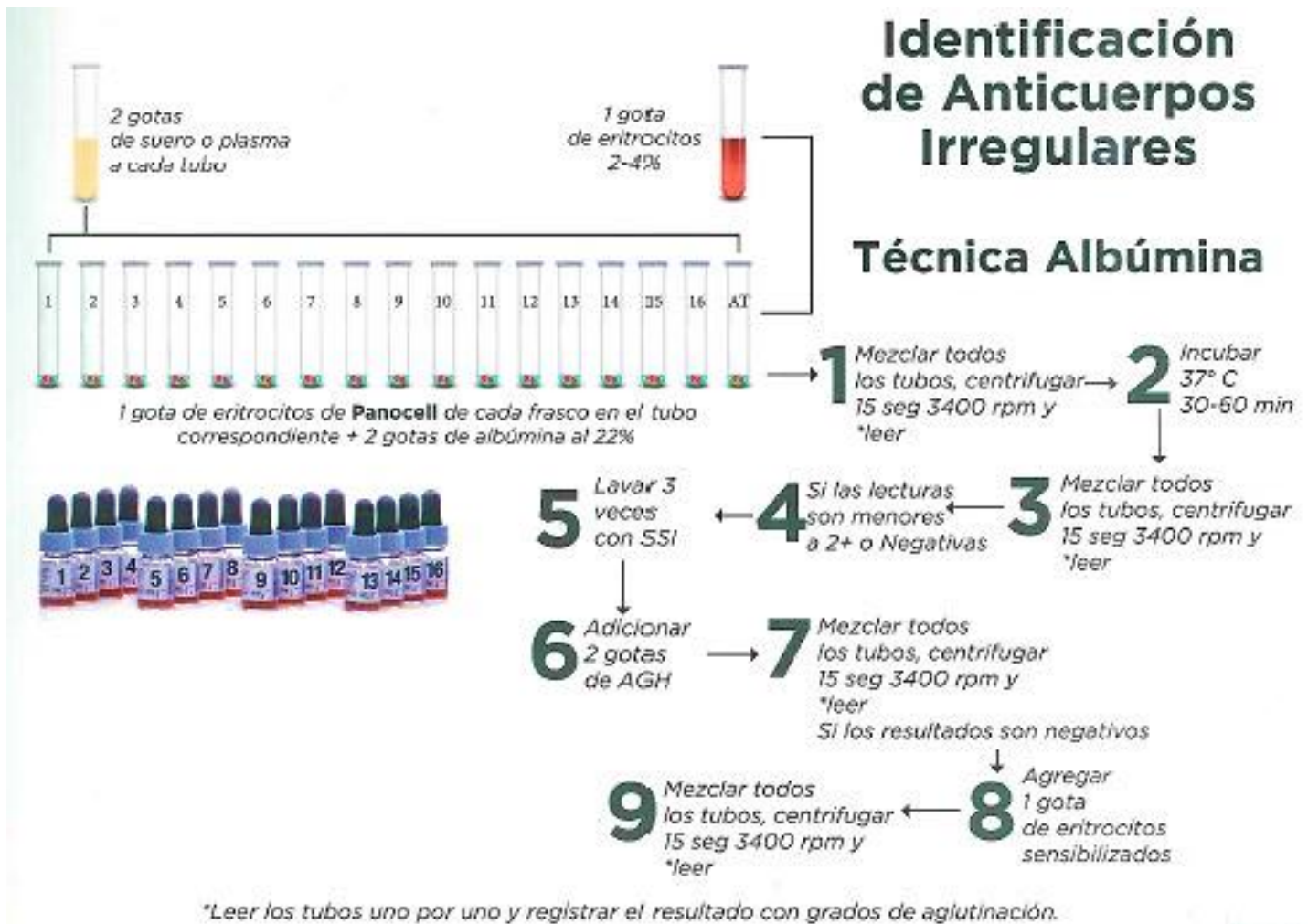


Imagen 64. Técnica para la identificación de anticuerpos irregulares. Fase albumina. (Castillo R, et al., 2015).

MANEJO DE RESIDUOS

Papel, servitoallas, torundas con poca sangre o con alcohol (no empapadas).

Desechar en la basura municipal.

Punzocortantes, material de vidrio con sangre.

Contenedor rígido rojo.

Tubos vacutainer con sangre.

Desechar en bolsas rojas de polipropileno.

Tubos con muestras biológicas (coágulos, suero o plasma).

Desechar en palanganas con hipoclorito de sodio al 1%

Desechos con soluciones de reacción.

Desecharlos en contenedores con hipoclorito de sodio al 1%



Práctica No. 18
Fraccionamiento sanguíneo.

INTRODUCCIÓN

El fraccionamiento de la sangre es el proceso mediante el cual se efectúa la separación de los componentes a través de una centrifugación diferencial, en el cual, los diferentes componentes sanguíneos al poseer diferentes gravedades son separados en diferentes capas por centrifugación, dependiendo de tres factores: **el peso específico de cada componente, la fuerza centrífuga relativa (velocidad) y la duración de la centrifugación o sea el tiempo determinado en revoluciones por minuto (rpm) además de la temperatura, aceleración y la desaceleración de la velocidad en cada una de las centrifugas.** La calidad de los componentes sanguíneos va en función a una disminución de los leucocitos de las fracciones sanguíneas, una estandarización del proceso, una mayor recuperación del plasma y del concentrado plaquetario, un aumento en la vigencia de los concentrados eritrocitario a 42 días y un mejor proceso de administración, ya que hay, mayor fluidez por la hemoconcentración que se alcanza por el aditivo, así como una mayor vigencia de las plaquetas (Vite-Casanova M, 2004). El área de fraccionamiento es crucial para la obtención de hemocomponentes de calidad, en la siguiente imagen se observan diferentes parámetros que afectan la calidad de los productos.

VARIABLE	EJEMPLO/COMENTARIO
BOLSAS DE EXTRACCIÓN.	Las propiedades de intercambio gaseoso permiten un tiempo de almacenamiento diferente de los componentes (por ejemplo, plaquetas).
TIPO DE AGITACIÓN DE LA SANGRE.	El uso de agitadores automatizados puede reducir el riesgo de interrupción de flujo durante el proceso de mezclado.
TIEMPO DE EXTRACCIÓN.	Un tiempo prolongado (15-20 minutos) no es apropiado para los concentrados plaquetarios o plasmáticos.
CANTIDAD DE SANGRE EXTRAÍDA.	La alteración en la producción de sangre/anticoagulante puede afectar el almacenamiento del GRD.
PRINCIPALES ANTICOAGULANTES-CONSERVADORES: ACD, CPD, CPDA-1, SOLUCIONES ADITIVAS.	El almacenamiento permitido de GRD varía según el tipo de conservante.
ALMACENAMIENTO TEMPORAL DE SANGRE ENTERA PREVIO A LA CENTRIFUGACIÓN.	Los niveles de factores lábiles de coagulación disminuyen durante el almacenamiento a temperatura ambiente o refrigerado. Las plaquetas se preservan mejor cuando la sangre entera se almacena a temperatura ambiente en vez de a 4°C.
CONDICIONES DE CENTRIFUGACIÓN.	Los factores más relevantes incluyen la temperatura, duración de centrifugación, máximo logrado de fuerza g, equilibrio de las tazas de centrifugación (centrifugación diferencial), grado de frenado.
MÉTODOS DE SEPARACIÓN DE COMPONENTES CELULARES Y DE PLASMA.	Los métodos automatizados pueden reducir la variabilidad en la contaminación de glóbulos rojos de las plaquetas y puede permitir una mayor extracción de plasma. La extracción de la capa leucocitaria permite la reducción de leucocitos en los componentes celulares.
TEMPO DE PROCESAMIENTO DE GRD.	Existen límites de tiempo durante el cual debe realizarse la leucorreducción para obtener GRD leucorreducidos prealmacenamiento.
CONGELAMIENTO DEL PLASMA.	El congelamiento rápido puede permitir una recuperación mayor del factor VIII.

Imagen 65. Variables que afectan la calidad del producto durante la extracción de sangre, procesamiento y preparación de los componentes. GRD= Glóbulos Rojos Desplasmáticos; ACD= Ácido-Citrato-Dextrosa; CPD= Citrato-Fosfato-Dextrosa; CPDA-1= Citrato-Fosfato-Dextrosa-Adenina (Aronson C, et al., 2012).

El fraccionamiento de la sangre se basa esencialmente en tres aspectos. El primero, corresponde al aseguramiento de la calidad del banco de sangre, acción determinante para proporcionar el receptor una seguridad transfusional. El segundo aspecto, el desarrollo de los contenedores de plástico para la recolección de sangre, revolucionando de manera importante a nivel mundial la recolección de la sangre, eliminando las complicaciones provocadas por la recolección de sangre en frascos de vidrio (como anteriormente se realizaba), tales como, embolias, contaminación y roturas, haciendo posible separar los componentes sanguíneos mediante conexiones con bolsas satélites. El tercer aspecto, es el desarrollo de los aparatos de refrigeración centrifugada con velocidad controlada, las centrifugas refrigeradas, que permiten que la sangre fresca sea separada en sus diferentes componentes sanguíneos (Vite-Casanova M, 2004).

Las bolsas de extracción de sangre, deben cumplir con las siguientes especificaciones: fácilmente maleables durante el procesamiento de la sangre, flexible, resistentes a retorcimientos y ralladuras. Además, el material de la bolsa debe resistir la esterilización por rayos gamma, por óxido de etileno, por acelerador lineal individual o en su conjunto. El plástico debería permitir el correcto intercambio de oxígeno y dióxido de carbono y así evita la evaporación de agua del hemocomponente. Existen bolsas de diversos tipos: bolsas simples, dobles, triples o cuádruples. Desde hace un tiempo, están disponibles otros tipos de bolsas de extracción de sangre que incluyen filtros en línea para la remoción de leucocitos. Los conservantes-anticoagulantes aprobados incluyen solución **ácido cítrico-citrato de sodio-dextrosa (ACD)**, **citrato-fosfato-dextrosa (CPD)**, **citrato fosfato-dextrosa-dextrosa (CP2D)** y **citrato-fosfato-dextrosa-adenina (CPDA-1)**. Las bolsas tienen puertos (también llamados pilotos) que permiten el acceso a cada bolsa para la transferencia de los componentes entre ellas. Se puede utilizar sellador dieléctrico o pinzas para separar las tubuladuras en segmentos, o también llamados pilotos (Aronson C, et al., 2012).

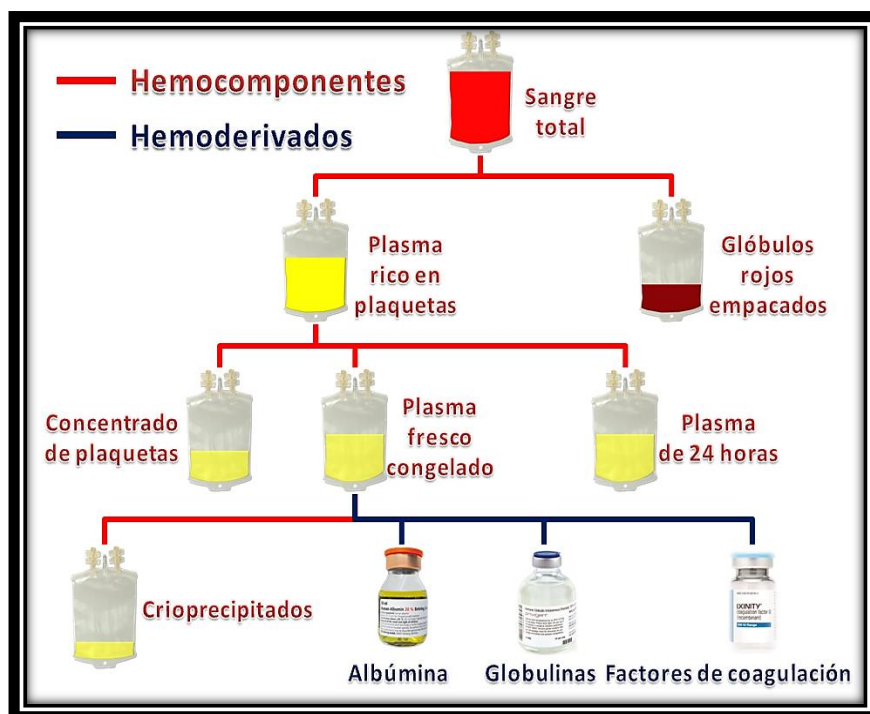


Imagen 66. Obtención de los hemocomponentes y hemoderivados a partir de una bolsa única de sangre total. Extraída de: <https://bit.ly/2GCdTOu>.



En la NOM-253-SSA1-2012, podemos encontrar las siguientes definiciones de los productos sanguíneos:

- **Sangre total:** el tejido hemático tal y como se obtiene en una sesión de extracción, suspendido en una solución anticoagulante.
- **Sangre fresca:** el tejido hemático de reciente extracción, que se ha mantenido en condiciones adecuadas de conservación y que mantiene todas las propiedades de sus diversos componentes.
- **Concentrado de eritrocitos o concentrado eritrocitario:** unidad que contiene mayoritariamente glóbulos rojos, obtenidos por fraccionamiento de una unidad de sangre total de una donación única o de una sesión de eritroaféresis.
- **Concentrado de plaquetas o concentrado plaquetario:** unidad que contiene principalmente trombocitos suspendidos en plasma, obtenidos por aféresis o preparados mediante fraccionamiento de unidades de sangre fresca de una donación única.
- **Concentrado de granulocitos:** unidad obtenida en una sesión de aféresis, que contiene principalmente neutrófilos suspendidos en plasma.
- **Plasma:** el componente específico separado de las células de la sangre.
- **Plasma fresco:** aquel obtenido de un donante de sangre total o mediante aféresis, en estado líquido, mantenido durante un periodo de tiempo y a una temperatura determinada que permitan que los factores lábiles de la coagulación permanezcan funcionales.
- **Plasma fresco congelado:** aquel obtenido de un donante de sangre total o mediante aféresis que se congela en un periodo de tiempo y a determinada temperatura, que permitan que los factores lábiles de la coagulación se mantengan en estado funcional.
- **Plasma desprovisto de crioprecipitado:** componente obtenido de una unidad de plasma fresco congelado, consiste en el remanente plasmático que queda al retirar la porción del plasma que precipita en frío.
- **Plasma rico en plaquetas:** el que contiene abundantes trombocitos en suspensión.
- **Plasma en cuarentena:** aquel en que se efectúan el control de las pruebas de detección de agentes infecciosos con una nueva determinación en el donante, en tiempo tal que cubra el periodo ventana habitual de los marcadores de las infecciones virales transmisibles por transfusión.
- **Crioprecipitado:** fracción proteica del plasma fresco congelado que precipita al descongelarse en condiciones controladas.
- **Unidad de crioprecipitado:** fracción proteica del plasma fresco congelado que precipita al descongelarse en condiciones controladas, obtenida de un solo donante.

OBJETIVO

Que el alumno comprenda la función principal del fraccionamiento sanguíneo, así como su almacenamiento, mediante los lineamientos establecidos por la NOM-253-SSA1-2012.

CONTENIDO

18.1 OBTENCION DE LOS HEMOCOMPONENTES.

Fundamento:

La obtención de los componentes de una unidad de sangre completa, se realiza a través de una **centrifugación diferencial**. La velocidad y el tiempo son los elementos clave en la separación de los



componentes, variables según la marca de la centrifuga y de la posición del cabeza. Los requisitos para el fraccionamiento de la sangre fresca son: que tenga **menos de 6 u 8 horas** de haber sido extraída, conservada adecuadamente antes de su fraccionamiento, un peso/volumen de 450 mL \pm 10%, una cantidad de aire no mayor a 5 mL, ausencia de coágulos, datos del donador (nombre y número de identificación), numero de la unidad, grupo sanguíneo y factor Rh, hematocrito y/o concentración de hemoglobina (Vite-Casanova M, 2004).

Las centrifugas utilizadas para la obtención de componentes sanguíneos, tienen un sistema de refrigeración que evita que, durante el proceso, en donde aumenta la temperatura por la fricción, el calor generado afecte a las bolsas con la sangre total donada.

En la siguiente imagen se observa una centrifuga especial para el proceso de centrifugación en el banco de sangre.



Imagen 67. centrifuga para la obtención de hemocomponentes. Extraída de: <https://bit.ly/2IWKaEO>.

Técnica:

Nota: Una vez obtenida la bolsa de donación, el primer paso es pesarlas, esto se realiza con la finalidad de saber si son aceptadas o no. Al pesarlas se verifica que el peso sea proporcional al volumen sanguíneo. Este paso debe de hacerse con forme al control de calidad interno de cada banco de sangre y bajo sus propios lineamientos.

- I. Una vez aceptadas las bolsas de donación se deben de ingresar en las camisas propias de la centrifuga. Se debe tener cuidado de que las guías de las bolsas no queden expuestas para que no se rompan con la fuerza centrífuga.
- II. Balancear las camisas con las bolsas dentro en una balanza granataria, con la finalidad de equilibrar los pesos. No se deben usar objetos duros para equilibrar los pesos porque pueden romper las bolsas.

- III. Una vez equilibrados los pesos, se deben de acomodar las bolsas encontradas dentro de la centrifuga.
- IV. Se debe de programar la centrifuga de acuerdo a las fracciones que se deseen obtener. En la siguiente tabla se describen los datos para la obtención de los diferentes hemocomponentes.

Componente	Fuerza centrífuga relativa (FCR) (g)	Minutos	FCR baja velocidad (g) *	Minutos
Concentrado de eritrocitos (paquete globular)	5 000	5	4 500	4
Plasma libre de células (para congelación)	5 000	7	1 500	20
Plasma rico en plaquetas	2 000	3	375	10
Concentrado plaquetario (obtenido del anterior)	5 000	7	1 500	15

*Centrífuga con 15 cm de radio medio (1 pulgada = 2,54 cm)

Imagen 68. Fuerza centrífuga relativa (g) para la obtención de los componentes de la sangre. Rodríguez M, et al., 2014.

En la siguiente imagen se observa cómo es que deben ir acomodadas las bolsas de sangre completa dentro de la centrifuga.



Imagen 69. Acomodo correcto de las bolsas de sangre en la centrifuga. Extraída de: <https://bit.ly/2lykNG8>.

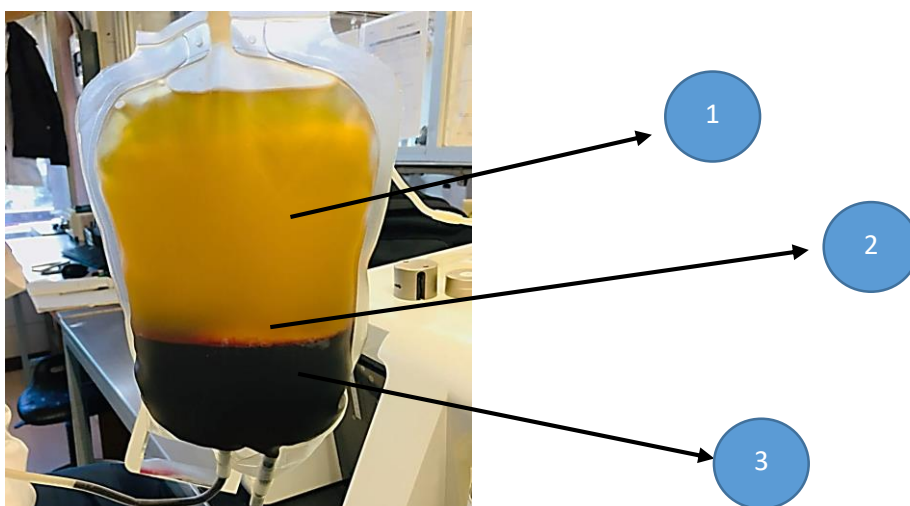


Imagen 70. Bolsa de sangre total centrifugada, en la parte superior se observa el plasma (1) y en la parte inferior los eritrocitos (3), en medio de ambas fracciones se encuentran la capa de plaquetas y leucocitos (2) o también llamada leucoplaquetaria. Banco de Sangre del Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Nota: Una vez transcurrido el tiempo de la centrifugación. Se deben de sacar las bolsas de manera cuidadosa para proceder a separar los componentes.

Para la obtención de los hemocomponentes se pueden emplear equipos automatizados, semiautomatizados o manuales. Los sistemas de fraccionamiento sanguíneo automatizados, tienen un microprocesador interno que monitorea la información de las básculas y tienen sensores ópticos y mecánicos integrados en el dispositivo. Usando esta información recopilada, el equipo controla la presión que ejerce sobre la bolsa primaria para dirigir el flujo de los componentes sanguíneos que se extraen (TERUMOBCT).

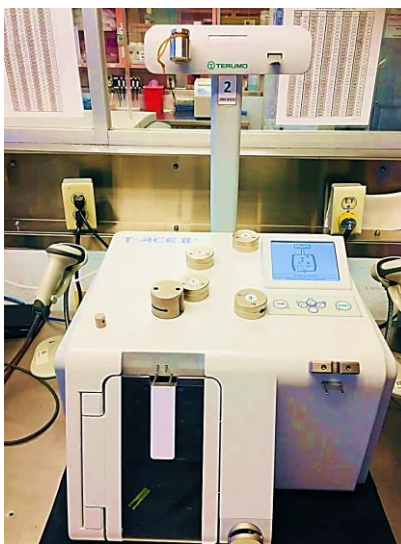


Imagen 71. Equipo utilizado para fraccionamiento. Banco de Sangre del Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Con el método manual de fraccionamiento, a partir de extractores manuales la separación de los componentes se tienen que realizar de manera secuencial, con el desplazamiento de la capa

leucoplaquetaria, lo cual, permite la posibilidad de contaminar los componentes fraccionados. Por este motivo, estos métodos manuales han sido discontinuados.



Imagen 72. Sistema de fraccionamiento manual (prensa). Extraído de: <https://bit.ly/2MingGE>.

18.2 ALMACENAMIENTO DE LOS HEMOCOMPONENTES.

La **NOM-253-SSA1-2012** establece las condiciones que deben los hemocomponentes, dependiendo del producto que se haya fraccionado. En las siguientes imágenes se enlistan dichas condiciones y la temperatura de conservación de los diferentes productos sanguíneos.

18.2.1 CONCENTRADOS PLAQUETARIOS

Los concentrados de plaquetas se podrán obtener por fraccionamiento de sangre fresca a partir de plasma rico en plaquetas o de la capa leucoplaquetaria, o bien mediante aféresis automatizada. Solo se fraccionarán plaquetas de unidades de sangre total cuando el tiempo de extracción de la sangre del donante no hubiese excedido de 12 minutos (NOM-253-SSA1-2012).

Los concentrados plaquetarios se deben de mantener en un armario incubador cerrado con control de temperatura entre +20°C y +24°C y que en su interior haya superficies que realicen movimientos horizontales suaves, oscilatorios de no más de 70 rpm, lo que mantendrá a las plaquetas en agitación constante, con la finalidad de obtener un intercambio gaseoso a través de la pared de la bolsa y evitar que éstas se plieguen.

En la siguiente imagen se observan las características del almacenamiento que deben tener las plaquetas una vez fraccionadas.

Variables		Vigencia
Otras condiciones	Temperatura de conservación	
a) En sistema cerrado, en agitación continua suave;	+20° C a +24° C	Cinco días después de la donación, ampliable hasta 7 días si se emplean sistemas de reducción bacteriana o métodos de detección de contaminación bacteriana.
b) En sistema cerrado, sin agitación;	+20° C a +24° C	Máximo 24 horas después de la donación.
c) Plaquetas lavadas (descongeladas o no), en agitación continua suave;	+20° C a +24° C	Máximo seis horas a partir de la apertura del sistema o del procedimiento (es preferible transfundirlas en el menor tiempo posible).
d) Plaquetas con escaso volumen de plasma, y		
e) Plaquetas en sistemas abiertos.		

Nota: Los procedimientos de irradiación o filtrado para leucodepleción no altera la vigencia asignada a los preparados de plaquetas.

Imagen 73. vigencia de unidades de plaquetas recuperadas de la sangre total, mezclas de unidades y unidades obtenidas por aféresis. (NOM-253-SSA1-2012).

Las plaquetas también se pueden congelar, pero solo se deberán emplearse unidades que hayan sido recolectadas por aféresis, que se encuentren en un lapso de las primeras 24 horas después de su extracción. En la siguiente imagen, tomada de la NOM-253-SSA2-2012, se observa la vigencia de las plaquetas que se congelan en el banco de sangre.

Tipo de unidad	Temperatura de conservación	Vigencia
Plaquetas obtenidas por aféresis	Igual o inferior a -150° C	Máximo 24 meses a partir de la congelación
	Igual o inferior a -80° C	Máximo 12 meses a partir de la congelación

Imagen 74. vigencia y conservación de unidades de plaquetas congeladas. (NOM-253-SSA1-2012).

18.2.2 CONCENTRADOS ERITROCITARIOS Y SANGRE TOTAL

El uso terapéutico de la sangre total es limitado, su utilidad primordial es para el fraccionamiento en sus diversos componentes. El intervalo entre la extracción y el fraccionamiento de la sangre total se llevará a cabo a la brevedad posible con el fin de conservar los efectos terapéuticos de cada uno de los componentes que la constituyen. En la siguiente imagen, se observa la vigencia máxima que tienen estos productos conforme al anticoagulante o solución preservadora que contienen las bolsas de donación.

Unidad	Anticoagulante o solución que contienen	Vigencia máxima	Temperatura de conservación
En sistemas cerrados			
Sangre y concentrados de eritrocitos	CPDA	35 días a partir de la extracción	+2° C y + 6° C
	CPD con solución aditiva.	42 días a partir de la extracción	
En sistemas abiertos			
Sangre y concentrados de eritrocitos	CPDA y CPD con solución aditiva.	24 horas a partir de la apertura del sistema	+2° C y + 6° C
		Seis horas a partir de la apertura del sistema	+6° y +10° C

Imagen 75. vigencia de las unidades de sangre total y de los concentrados de eritrocitos. (NOM-253-SSA1-2012).

18.2.3 CONCENTRADO DE GRANULOCITOS.

Los concentrados de granulocitos para uso terapéutico se deberán obtener mediante aféresis. Los concentrados de granulocitos se deberán conservar entre +20°C y +24°C, preferentemente en agitación. Su periodo de vigencia máxima será de 24 horas; de no emplearse en este lapso, se le deberá de dar destino final (NOM-253-SSA1-2012).

18.2.4 PLASMA Y CRIOPRECIPITADOS.

Para obtener plasma fresco y crioprecipitados se realiza también a partir de sangre completa. De acuerdo a la siguiente imagen es su tiempo de conservación.

Unidad	Temperatura de conservación	Intervalos máximos de vigencia (véase nota)
Plasma fresco, plasma desprovisto de factores lábiles de la coagulación y crioprecipitados	-25° C o inferior	36 meses
	-18° C a -25° C	Tres meses
Plasma fresco y crioprecipitados descongelados	+2° C a +6° C	Seis horas

Nota: Los plasmas que fuesen a destinarse para elaborar hemoderivados deberán conservarse bajo los criterios que indique de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.

Imagen 76. Conservación y vigencia de las unidades de plasma y crioprecipitados. (NOM-253-SSA1-2012).



RESULTADOS

Actividad: conforme a lo establecido en la NOM-253-SSA1-2012. Conteste las siguientes cuestiones.

1. Mencione tres parámetros cruciales que se deben controlar en centrifugación diferencial.

2. Suponga que usted es el encargado del área de fraccionamiento y un donador dono sangre total a las 10:00 horas y usted es llamado a una junta urgente en el banco de sangre, la sangre total permaneció sin fraccionar más de 8 horas. Aceptaría el tejido sanguíneo para fraccionarlo o no. Explique el porqué de su decisión.

3. Mencione cuales son las características de almacenamiento de cada uno de los siguientes hemocomponentes.

	Concentrados plaquetarios	Plaquetas congeladas	Plasma fresco congelado	Plasma desprovisto de crioprecipitados	Crioprecipitados	Concentrados eritrocitarios
Almacenamiento						



--	--	--	--	--	--	--

4. Mencione cuales son las rpm y temperatura que debe tener su centrifuga para la obtención de concentrado eritrocitario, plasma fresco, crioprecipitados, y plasma desprovisto de crioprecipitados.

	Concentrado eritrocitario	Plasma fresco congelado	Plasma desprovisto de crioprecipitados	Crioprecipitados
Revoluciones por minuto				
Temperatura de la centrifuga				

BIBLIOGRAFÍA

- Aronson C, et al., (2012). Manual técnico de la Asociación Americana de Bancos de Sangre. Buenos aires, Argentina: Asociación argentina de hemoterapia e Inmunohematología.
- Jiménez J, Gómez D. (2012). Hematología. La sangre y sus enfermedades. México: McGraw-Hill Educación.
- Vite-Casanova M. (2004). El fraccionamiento de la sangre. Gaceta Médica de México. 140(3).





Práctica No. 19

Protocolo de reacciones adversas a la transfusión.**INTRODUCCIÓN.**

Generalmente la transfusión de componentes sanguíneos se considera un procedimiento terapéutico seguro, inocuo y eficaz. Sin embargo, la terapia transfusional puede producir resultados adversos. Estos efectos adversos que se conocen como "Reacciones Transfusionales" (RT), tiene una variedad de complicaciones, que van de leves a graves, pudiendo incluso provocar la muerte. Por tanto, los riesgos de la transfusión deben sopesarse con los beneficios terapéuticos esperados, llevándose a cabo solo cuando los beneficios superen los riesgos (López A, 2007).

Una reacción transfusional es aquella respuesta anormal o efecto adverso que un paciente presenta o desarrolla con la administración de los diferentes componentes sanguíneos, de manera inmediata o tardía. La frecuencia oscila de 0.5-3% del total de los pacientes transfundidos. La reacción transfusional se considera inmediata o aguda si se presenta en las primeras 24 horas posteriores a la transfusión y tardía cuando se presenta después de este lapso (López A, 2007).

Es importante que los médicos estén al tanto de dichos riesgos cuando se discute con un paciente la necesidad de la transfusión. Aun mas, las enfermeras y los responsables de transfundir deben estar al tanto de los signos y síntomas de una posible reacción y deben estar muy bien preparados para las acciones que se deben tomar a fin de mitigar el episodio actual, así como evitar futuras reacciones similares cuando sea posible. El reconocimiento temprano, la inmediata suspensión de la transfusión y una mejor evaluación son elementos claves para obtener un resultado exitoso. Dentro de los signos y síntomas que pueden ser indicadores de una reacción transfusional se pueden mencionar los siguientes:

- Fiebre, generalmente definida como un incremento de la temperatura por encima de los 37°C, es el signo más característico.
- Escalofríos con o sin temblores.
- Dificultad respiratoria, incluyendo tos, disnea y cianosis.
- Híper o hipotensión.
- Dolor abdominal, de tórax, lateral o de espalda.
- Dolor en el sitio de la infusión.
- Manifestaciones cutáneas, incluyendo urticaria, erupciones, enrojecimiento, prurito y edema localizado.
- Nauseas/vómitos.
- Sangrado anormal.

El diagnostico diferencia de una reacción transfusional puede dividirse en agudas o inmediatas, contra reacciones tardías. Estos dos tipos de reacciones pueden clasificarse aún más como reacciones inmunológicas o no inmunológicas, las primeras son aquellas donde existe una respuesta inmune por la transfusión y las segundas se deben a otros factores (Aronson C, et al. 2012)

Las reacciones de tipo inmunológico son provocadas por la interacción *in vivo* de un antígeno con su correspondiente anticuerpo (Ag-Ac). Por lo general, el anticuerpo está presente en el plasma del receptor y el antígeno en los eritrocitos del donador (se dice que hay una incompatibilidad mayor). Los anticuerpos transferidos con el plasma de un donador pueden originar hemolisis al combinarse con los eritrocitos del paciente (se dice que hay una incompatibilidad menor). En este



rubro se encuentran las reacciones **hemolíticas**, que pueden ser intravasculares y extravasculares. En las hemólisis **intravasculares**, la destrucción de los eritrocitos se produce en el torrente sanguíneo con producción de hemoglobinemia y hemoglobinuria; los anticuerpos son IgM, con capacidad de activar al sistema del complemento. En la hemólisis **extravasculares**, los anticuerpos son IgG fijadoras o no del complemento y la destrucción eritrocitaria ocurre en el sistema fagocítico mononuclear, con elevación de bilirrubina indirecta. Aunque en toda reacción hemolítica participan ambos mecanismos simultáneamente, una predomina sobre el otra (López A, 2007). En la siguiente imagen se ven las diferentes reacciones transfusionales inmunológicas.

Reacciones	
Inmunológicas	Inmediatas <ul style="list-style-type: none"> • Hemolítica • Febril no hemolítica • Alérgicas: <ul style="list-style-type: none"> * Urticaria * Anafiláctica • Daño pulmonar agudo asociado a transfusión
	Tardías <ul style="list-style-type: none"> • Aloinmunización contra antígenos: eritrocitarios, leucocitarios, plaquetarios o proteínas plasmáticas • Hemolítica • Enfermedad injerto contra hospederio (EICH-AT) • Púrpura postransfusión • Inmunomodulación por transfusión

Imagen 77. Reacciones transfusionales inmunológicas. (Malagón A, et al. 2007).

Numerosas complicaciones pueden acompañar a la terapia transfusional, a pesar de contar con hemocomponentes compatibles inmunológicamente. Las reacciones transfusionales no inmunológicas se asocian al método de obtención, preparación, almacenaje o administración del hemocomponente (López A, 2007). En la siguiente imagen se ven las diferentes reacciones transfusionales no inmunológicas.

No inmunológicas	Inmediatas <ul style="list-style-type: none"> • Contaminación bacteriana • Sobrecarga circulatoria • Hemólisis no inmune <ul style="list-style-type: none"> * Mecánica * Térmica * Osmótica • Embolia <ul style="list-style-type: none"> * Aérea * Partículas • Hipotermia • Desequilibrio electrolítico <ul style="list-style-type: none"> * Hipocalcemia * Hiperpotasemia * Hipomagnesemia • Coagulopatía hemodilucional
------------------	---

Imagen 78. Reacciones transfusionales no inmunológicas. (Malagón A, et al. 2007).

	Tardías <ul style="list-style-type: none"> • Hemosiderosis • Transmisión de infecciones virales, bacterianas y parasitarias.
--	---

Imagen 78. Reacciones transfusionales no inmunológicas. CONTINUACION.

OBJETIVO.

Que el alumno conozca el protocolo general que se lleva a cabo en el banco de sangre cuando se presenta una reacción adversa transfusional, mediante la legislación que marca la NOM-253-SSA1-2012.

ACTIVIDAD PREVIA.

Consulte la **NOM-253-SSA1-2012**, específicamente el capítulo 14, con la finalidad de contestar el cuestionario que se le solicitará en el apartado de Resultados.

CONTENIDO.

19.1 PROTOCOLO GENERAL DE MANEJO DE REACCIONES TRANSFUSIONALES INMEDIATAS.

La **NOM-253-SSA1-2012**, indica que el médico que atienda a un paciente que ha recibido una transfusión, deberá evaluar de inmediato cualquier aparente reacción transfusional y adoptará las medidas que estime necesarias, conforme a los procedimientos establecidos. La **Guía para el uso clínico de la sangre**, de la Secretaría de Salud, indica el protocolo general que se debe de llevar a cabo durante las reacciones transfusionales:

1. Suspender de manera inmediata la transfusión del componente
2. Mantener un acceso venoso permeable
3. Identificar el tipo de reacción transfusional
4. En caso de sospecha de reacción hemolítica, tomar muestras para estudio de la reacción y enviar al servicio de transfusiones o banco de sangre:
 - Muestra sanguínea con anticoagulante (EDTA).
 - Muestra sanguínea sin anticoagulante.
 - Muestra de orina postreacción.
 - El remanente del producto transfundido y el equipo de transfusión.
 - Acompañar un breve resumen clínico del paciente que incluya: diagnóstico, medicamentos administrados, tipo de reacción transfusional (formato de identificación del producto requisitado), antecedente de reacciones previas y manipulación que se dio al producto (cambio de temperatura, conservación, etc.).
5. En caso de la reacción hemolítica intravascular es crucial mantener la perfusión renal, con un flujo urinario superior a 100 mL por hora al menos por 18-24 horas, mediante hiperhidratación con solución salina (excepto en pacientes con diagnóstico previo IRC (cálculo del incremento del recuento corregido para plaquetas) y diuréticos del tipo de la furosemida 40-80 mg en adultos y 1-2 mg por kilogramo de peso en niños.



6. La hipotensión puede tratarse con dosis bajas de dopamina (menos de 5 µg por kilogramo por minuto).
7. Otras medidas de sostén que se consideren pertinentes (manejo de coagulopatía, choque, etc.).
8. Verificar: número de registro, grupo ABO y Rh0 D de la unidad transfundida; identificación de muestras sanguíneas y nombre del paciente.
9. Realizar estudios de laboratorio en las muestras pre y post transfusional del receptor (el servicio de transfusiones debe conservar las muestras pretransfusión un mínimo de siete días, el suero se mantiene congelado y el coagulo de +1 a +6°C):
 - Observar si el plasma de la muestra postransfusión del paciente presenta datos de hemolisis.
 - Repetir la determinación de grupo sanguíneo ABO y Rh0 D en las muestras pre y post transfusión del paciente.
 - Realizar prueba de antiglobulina humana directa (Coombs directo) en la muestra postransfusión del paciente.
 - Realizar pruebas de compatibilidad con las muestras pre y post transfusional.
 - Investigar la presencia de anticuerpos irregulares eritrocitarios en las muestras pre y post transfusión del paciente.
 - En el remanente de la bolsa del componente sanguíneo verificar grupo ABO y Rh0 D cuando proceda, cuenta de leucocitos, bacterioscopía y cultivo.
 - En la muestra de orina realizar inspección visual y estudio de hemoglobina libre.
10. Solicitar al paciente los siguientes estudios de laboratorios:
 - Determinación de citometría hemática.
 - Determinación de bilirrubinas.
 - Hemoglobina libre en plasma.
 - Haptoglobinas.
 - Metahemalbúmina.
 - DHL.
 - Monitoreo del estado de la función renal: BUN y creatinina sérica).
 - Monitoreo del estado de coagulación: TP, TTPa, fibrinógeno y cuenta de plaquetas.
 - Leucoaglutinación y linfocitotoxicidad (para el diagnóstico diferencia con reacción febril no hemolítica).

En caso de que la reacción transfusional se sospeche que sea por contaminación bacteriana se enviará la unidad implicada al banco de sangre o en su caso, al servicio de transfusión, junto con una muestra del receptor obtenida en condiciones de esterilidad. En su caso, el banco de sangre deberá enviar la unidad o mezcla implicada junto con una muestra del receptor para bacterioscopía y cultivo. En este caso y de haberse preparado más de un componente a partir de la misma unidad, se dará destino final al resto de los componentes. A cualquier unidad o remanente de ella involucrada en una reacción transfusional se le deberá dar destino final una vez concluidos los estudios pertinentes para cada tipo de reacción o efecto adverso (NOM-253-SSA1-2012. Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos).

En la siguiente imagen se observa el formato sugerido por la Secretaria de Salud para el reporte de una reacción transfusional.





REPORTE DE REACCIÓN TRANSFUSIONAL

Nombre del paciente: _____ Edad: _____ Sexo: _____
 Registro: _____ Servicio: _____
 Diagnóstico: _____

Fecha: _____ Hora de la reacción: _____ Volumen transfundido: _____ Identificación del producto transfundido: _____

SIGNOS VITALES

	Pretransfusión	Postransfusión
Temperatura:	_____	_____
F.C.:	_____	_____
F.R.:	_____	_____
T/A:	_____	_____
Pulso:	_____	_____

SIGNOS Y SÍNTOMAS

_____ Urticaria	_____ Orina oscura	_____ Hipotensión
_____ Prurito	_____ Petequias	_____ Elevación de la temperatura mayor a 1°C de la temperatura inicial
_____ Incremento del pulso	_____ Anafilaxia	
_____ Dolor muscular	_____ Oliguria	

ACCIONES TOMADAS POR QUIEN REALIZA LA TRANSFUSIÓN

Suspender la transfusión de inmediato
 Mantener vena permeable con solución fisiológica
 Toma de signos vitales
 Toma de muestras sanguíneas (3 cc con anticoagulante EDTA y 10 cc sin anticoagulante) y muestra de orina

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN POR EL LABORATORIO

1.Observación visual de las muestras pre y postransfusión del paciente: hemólisis, ictericia y otros cambios de coloración.
 2.Verificar apariencia del producto sanguíneo y del equipo de transfusión: hemólisis, coágulos, aire y cambios de coloración. Aspecto físico e integridad de la bolsa, etiquetas y equipo de transfusión para identificar posible mal manejo.
 3.Realizar:

ESTUDIOS	PRE	POST	PRODUCTO
Coombs directo		_____	_____
Grupo ABO	_____	_____	_____
Grupo Rh(D)	_____	_____	_____
Investigación de anticuerpos		_____	_____
Antieritrocitos	_____	_____	_____
Antileucocitos	_____	_____	_____
Antitrombocitos	_____	_____	_____
Hemoglobina libre	_____	_____	_____
Pruebas cruzadas	_____	_____	_____
Hemoglobina en orina		_____	_____
Bilirrubinas (después de 6 horas de la reacción)		_____	_____
Tinción de gram(*)			_____
Cultivo (*)			_____

(*)Están indicados cuando existan cambios de coloración, hemólisis, presencia de coágulos, volumen anormal de aire, antecedentes de manipulación del componente por el servicio de transfusión o del área clínica (fracciones pediátricas, conexión de equipo de transfusión, productos lavados, ruptura de la unidad).

INTERPRETACIÓN: _____

Nombre completo y firma del médico que reporta
Nombre completo y firma del químico que realiza los estudios

Imagen 79. Reporte de reacción adversa transfusional. (Malagón A, et al., 2007).

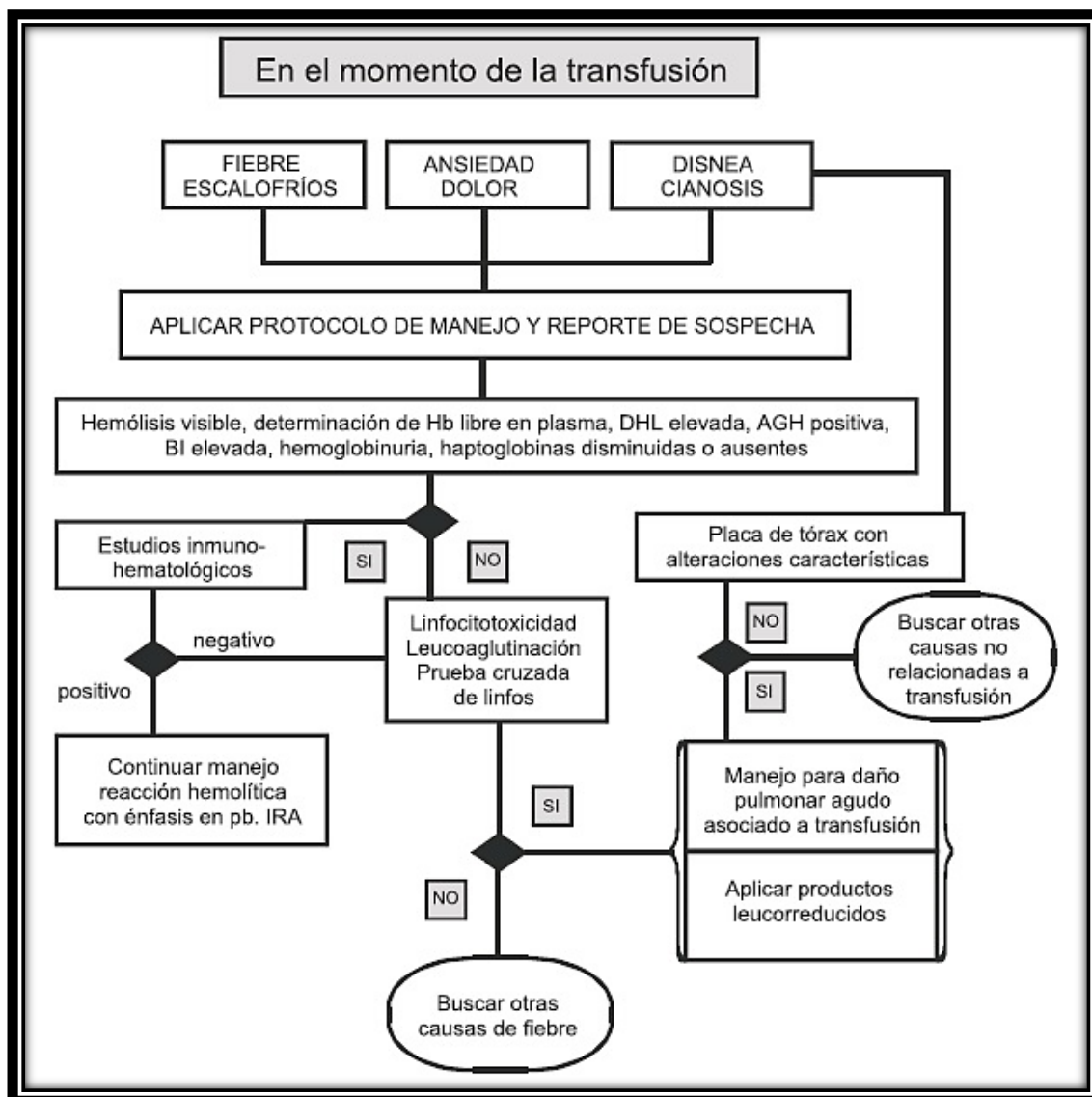


Imagen 80. Algoritmo de reacciones Transfusionales inmediatas (Malagón A, et al., 2007).

RESULTADOS.

Actividad: con base a lo revisado en la NOM-253-SSA1-2012, conteste las siguientes preguntas:

1. ¿Bajo qué condiciones opta el médico tratante la indicación de una transfusión?



2. ¿Bajo qué condiciones se pueden realizar transfusiones domiciliarias?

3. ¿Únicamente un banco de sangre es el facultado para realizar transfusiones ambulatorias? Explique.

4. Mencione tres características que deben tener los equipos especializados para la transfusión de hemocomponentes.

5. Cuando se presenta una reacción inmediata adversa a la transfusión, ¿Cuáles son los tipos de muestras que se deben de enviar inmediatamente al banco de sangre para su análisis?

6. Una vez recogidas las muestras por el banco de sangre: ¿Qué tipo de pruebas de laboratorio se deben de realizar en las muestras pre y postransfusionales del receptor? Anote también las pruebas que se deben realizar al remanente de la unidad transfundida.





7. ¿Qué sucede con las unidades o remanentes que fueron involucradas en una reacción transfusional?

BIBLIOGRAFÍA.

- Aronson C, et al., (2012). Manual técnico de la Asociación Americana de Bancos de Sangre. Buenos aires, Argentina: Asociación argentina de hemoterapia e Inmunohematología.
- López A. (2007). Fundamentos de banco de sangre y medicina transfusional. México: Agrupación Mexicana para el Estudio de la Hematología, A.C.
- Malagón A, et al., (2007). Guía para el uso clínico de la sangre. México: Secretaria de Salud.
- NOM-253-SSA1-2012. Para la disposición de sangre y sus componentes con fines terapéuticos.





Práctica No. 20 Control de calidad.

INTRODUCCIÓN.

Existe gran cantidad de literatura acerca de la gestión de la calidad en los laboratorios. Edwards Deming, a quien a menudo se considera el padre de la gestión de la calidad, describió un "sistema" como una "serie de funciones o actividades dentro de una organización que trabajan juntas con el objetivo de la organización". La gestión de calidad son las actividades coordinadas para dirigir y controlar una organización con respecto a la calidad. Dentro de la gestión de calidad se encuentre la política de la calidad y los objetivos de la calidad, el planeamiento de la calidad, **control de calidad**, garantía de calidad y mejora de la calidad. Podemos definir al **control de calidad** como una rama de la gestión de calidad, que engloba el conjunto de mecanismos, procesos y procedimientos diseñados para monitorear el sistema de medición y asegurar que los resultados son confiables para el uso clínico deseado (Westgard J, Migliarino G. 2014).

El control de calidad es un sistema diseñado para incrementar la probabilidad de que cada resultado reportado por el laboratorio sea válido y pueda ser utilizado con confianza por el médico. Los procedimientos de control de calidad funcionan detectando errores analíticos, idealmente cualquier error suficientemente grande para invalidar la utilidad médica de los resultados de laboratorio debe ser detectado. El rango esperado de los valores para un control es calculado usando estadísticas relativamente sencillas. Estas estadísticas incluyen: la media, desviación estándar, coeficiente de variación y el índice de desviación estándar (Cooper W, 2007).

La media (o promedio) proporciona la mejor estimación sobre el valor real del analito para un nivel específico del control. La **desviación estándar** cuantifica la cercanía de los valores numéricos entre cada uno de ellos y es utilizada para evaluar la precisión del sistema de prueba. Es muy recomendable usar una calculadora o una hoja de cálculo para realizar la desviación estándar. Usando la media y la desviación estándar, el laboratorio puede establecer **límites de decisión**. Estos límites son utilizados para definir qué resultado del control es considerado aceptable. Los límites de decisión son establecidos a $\pm 1s$, $2s$ y $3s$ de la media. Usando la media y un rango de $\pm 3s$, se crea una **gráfica Levey-Jennings** para cada analito y cada nivel de control, que permite al laboratorio monitorear la precisión de sus pruebas. Cuando un proceso analítico está en control, los datos del control de calidad formarán una **distribución Gaussiana**, donde aproximadamente el 99.7% de los resultados caerán dentro de los límites de $\pm 3s$. Los resultados del control de calidad que están fuera de los límites $3s$ son generalmente considerados fuera de control, y el ensayo debería ser rechazado. Los resultados del control de calidad mayores a $2s$, pero dentro de los límites $3s$ no necesariamente indican que el ensayo deba ser rechazado, ya que aproximadamente 4% de los resultados válidos caerán entre $2s$ y $3s$ (Bio-Rad Laboratories, 2009).

OBJETIVO.

El alumno elaborará una gráfica de Levey-Jennings aplicando los métodos estadísticos básicos para el control de calidad en el banco de sangre.





CONTENIDO.

20.1 CÁLCULO ESTADÍSTICO.

El cálculo estadístico, consiste en calcular la media, la desviación estándar y los límites de detección, funciona para poder construir el grafico de Levey-Jennings.

- **Calculo de la media (\bar{x}).** Para calcular la media se deben sumar todos los valores obtenidos para ese control. Enseguida, se divide la suma de los valores entre el total de todos los valores. Se puede aplicar la siguiente fórmula:

$$\bar{x} = \sum x_n / n$$

Donde:

\bar{x} = media

n = total de los valores del grupo de datos

x_n = cada valor en el grupo de datos

- **Calculo de la desviación estándar (s).** Para poder realizar este paso debe aplicar la siguiente fórmula:

$$s = \sqrt{\frac{\sum(x_n - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Donde:

S = desviación estándar

$\sum(x_n - \bar{x})^2$ = sumatoria de cada valor en el grupo de datos,
menos la media, todo esto al cuadrado

n = total de los valores del grupo de datos

- **Límites de decisión o de control.** Cada limite control tiene un límite superior y uno inferior.

Para el cálculo de los limites inferior:

$$-1s = \bar{x} - s$$

$$-2s = \bar{x} - 2s$$

$$-3s = \bar{x} - 3s$$

Para el cálculo de límites superior:

$$+1s = \bar{x} + s$$

$$+2s = \bar{x} + 2s$$

$$+3s = \bar{x} + 3s$$

20.2 ELABORACIÓN DE GRÁFICAS DE LEVEY-JENNINGS.

Para la elaboración de una gráfica control, se deben tener valores del control que se vaya a graficar. Para este ejemplo utilizaremos el control positivo para el marcador serológico de HIV, el



equipo **Architect**, para este control, mide los valores en Unidades Relativas de Luz (URL). Los materiales de control fueron analizados una vez al día durante un periodo de 20 días. Los datos de cada día, respectivamente, fueron los siguientes:

5.4 URL	8.9 URL	12.2 URL	5.9 URL	12.0 URL
6.4 URL	10.0 URL	9.8 URL	8.7 URL	11.1 URL
7.0 URL	12.6 URL	8.1 URL	10.3 URL	8.0 URL
8.5 URL	11.1 URL	7.4 URL	12.5 URL	13.3 URL

I. Aplicando las formulas anteriores, se calculan la media:

$$\bar{x} = \sum x_n / n$$

$$\bar{x} = \frac{5.4 + 7 + 8.9 + 12.6 + 12.2 + 8.1 + 6.4 + 8.5 + 10 + 11.1 + 9.8 + 7.4 + 5.9 + 10.3 + 12 + 8 + 8.7 + 12.5 + 11.1 + 13.3}{20}$$

$$\bar{x} = 9.5$$

II. Se debe calcular la desviación estándar.

$$s = \sqrt{\frac{\sum(x_n - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

$$(x_n - \bar{x})^2 = (5.4 - 9.5)^2 + (7 - 9.5)^2 + \dots \dots \dots (13.3 - 9.5)^2 =$$

$$s = \sqrt{\frac{108.4}{19}} = 2.3$$

Se obtiene una media de 9.5 URL y una SD de 2.3 para el control positivo para HIV.

III. El siguiente paso es calcular los límites de control, aplicando las formulas anteriores.

- | | |
|--|---|
| -1s= $\bar{x} - s = 9.5 - 2.3 = 7.2$ (límite inferior 1s) | +1s= $\bar{x} + s = 9.5 + 2.3 = 11.8$ (límite superior 1s) |
| -2s= $\bar{x} - 2s = 9.5 - (2 * 2.3) = 4.9$ (límite inferior 2s) | +2s= $\bar{x} + 2s = 9.5 + (2 * 2.3) = 14.1$ (límite superior 2s) |
| -3s= $\bar{x} - 3s = 9.5 - (3 * 2.3) = 2.6$ (límite inferior 3s) | +3s= $\bar{x} + 3s = 9.5 + (3 * 2.3) = 16.4$ (límite superior 3s) |

IV. Una vez obtenidos esos datos, se construye la gráfica utilizando papel cuadrulado. Una hoja para cada control que se vaya a graficar.

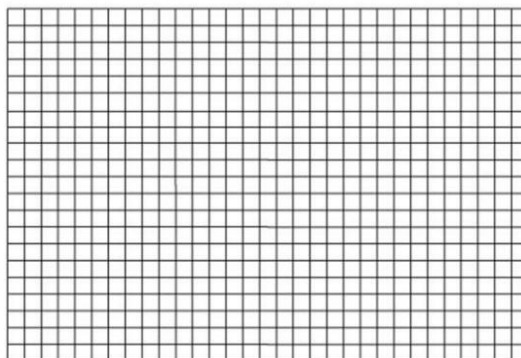


Imagen 81. Papel cuadrulado para la elaboración del gráfico (Westgard J, 2013).

La grafica debe incluir un **título**, el cual debe llevar el nombre del ensayo y el tipo de control que se está realizando. En el eje "x" o horizontal, representa los días en los que se realizó el control, como normalmente se realiza en un mes, se ponen en 30 días. En la escala del eje "y" o vertical, se deben poner la escala de acuerdo a las unidades del control, en nuestro caso con unidades relativas de luz (URL).

V. A la mitad de la hoja, se debe anotar en el eje vertical el valor de la media, trazando una línea horizontal a lo largo de la hoja. Se debe localizar los valores que correspondan a la desviación estándar de +1s y -1s y así, para cada uno de los límites de control.

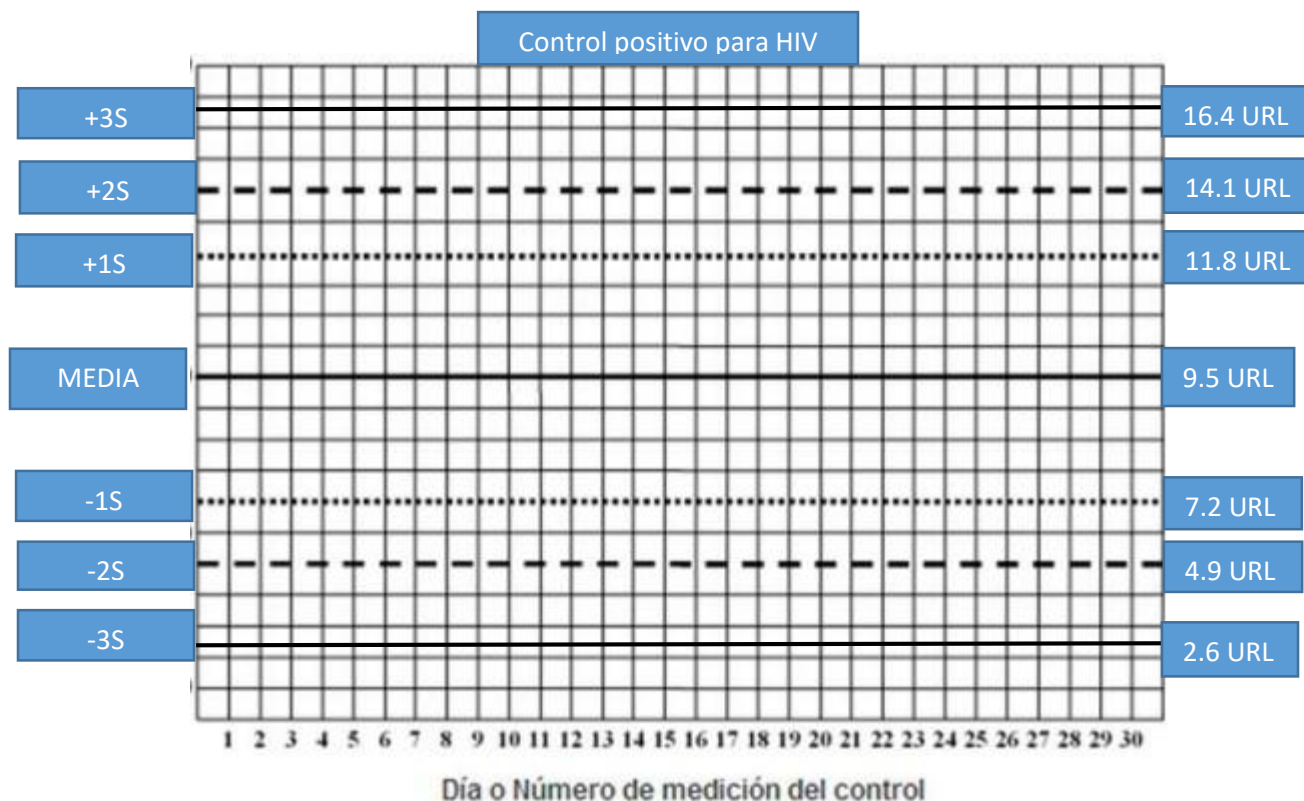


Imagen 82. Señalamiento de los cálculos estadísticos (Westgard J, 2013).

- VI. Una vez establecidos los límites de control y la media, se comienza a anotar en la gráfica los puntos del control, en este caso el control positivo para el marcador serológico de HIV.

El objetivo de un buen control de calidad, es realizar un control estadístico del proceso en donde, las mediciones del control deberían de mostrar la misma distribución, o parecida. Eso significa que será poco usual ver un valor del control que exceda el límite 2s y muy raro ver valores que excedan un límite 3s. Si el procedimiento de medida es inestable y tiene algún tipo de problema, habría más posibilidades de ver valores del control que excedan los límites. Por lo tanto, cuando los valores del control caen dentro de la distribución esperada, se clasifica la corrida como "en control", se aceptan los resultados y se informan los resultados de pruebas de pacientes. Cuando los valores de control caen por fuera de la distribución esperada, se clasifica la corrida como "fuera de control", se rechazan los valores de las pruebas y no se informan los resultados de los análisis de los pacientes.

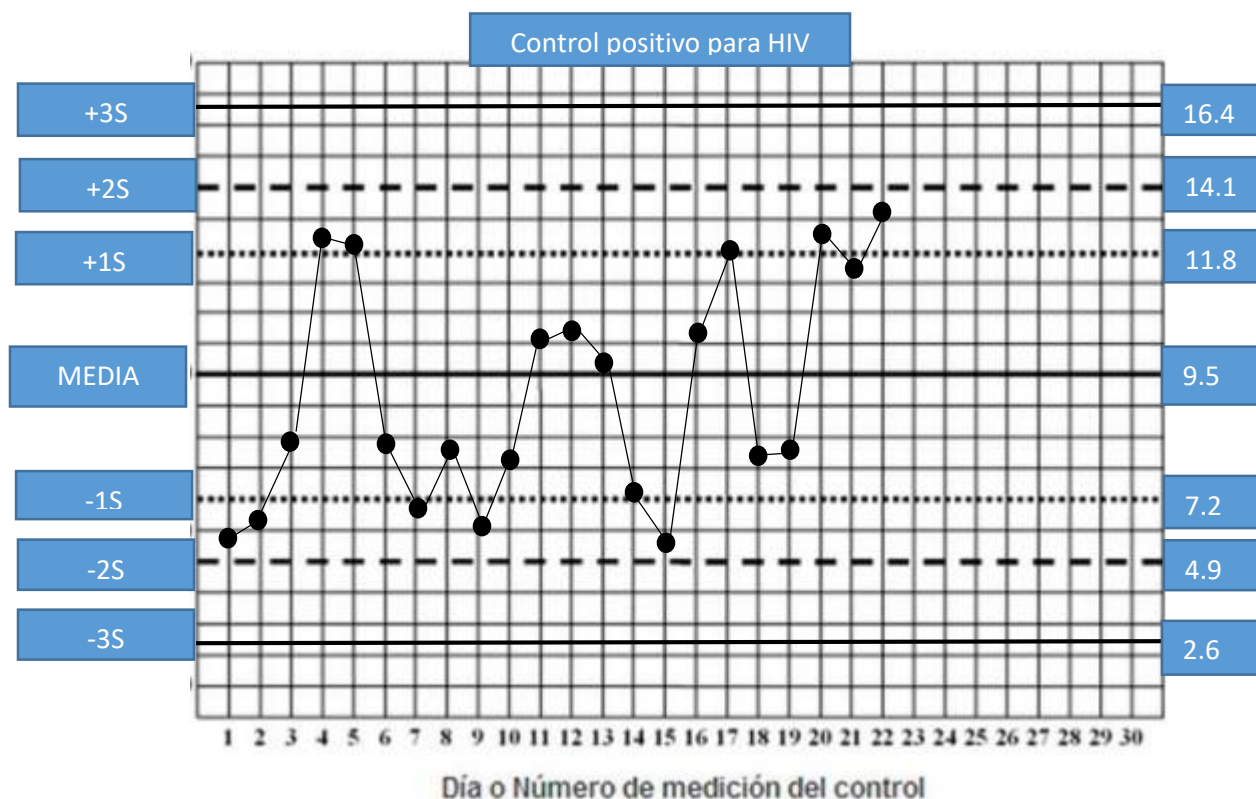


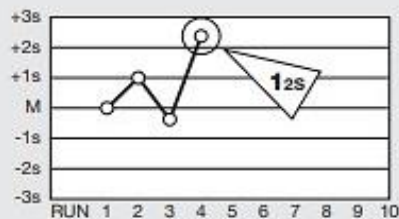
Imagen 83. Grafica de control para el marcador positivo de HIV, como se observa en la imagen, los puntos caen dentro de los límites de +2s y -2s, por lo que el control se acepta (Westgard J, 2013).

20.3 EVALUACIÓN DE LAS REGLAS DE WESTGARD

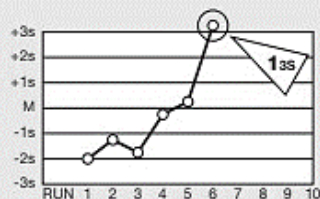
Los retos del desempeño consisten en varias reglas que definen los límites específicos de desempeño. Estas reglas son comúnmente conocidas como reglas de Westgard. Si cualquiera de las reglas es violada, entonces la corrida analítica debe invalidarse y los resultados de las pruebas no son aceptados. Son varias las reglas de Westgard. Algunas son diseñadas para detectar errores aleatorios; otras detectan errores sistemáticos que pueden indicar un sesgo en el sistema. El objetivo principal es obtener una alta probabilidad de detectar error y una baja frecuencia de falso rechazo de las corridas (Cooper W, 2007).

Nota: si cualquiera de las siguientes reglas es violada, el técnico debe revisar la realización de la prueba, consultando las guías de problemas, tal vez la realización del mantenimiento, corregir los problemas identificados o los del protocolo, y notificar al supervisor que toma las decisiones referentes al reporte de resultados y correr nuevamente la prueba (Cooper W, 2007). Las reglas son:

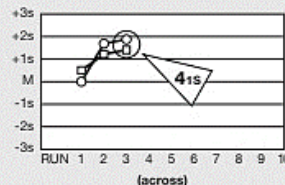
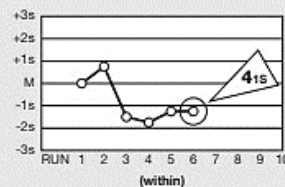
1_{2s} Esta es la "regla de advertencia." Si una medición de control excede la media $\pm 2s$, entonces el técnico debe considerar otros controles en la corrida ("intra-ensayo") y en corridas previas ("inter-ensayo") antes de aceptar la corrida y reportar los resultados.



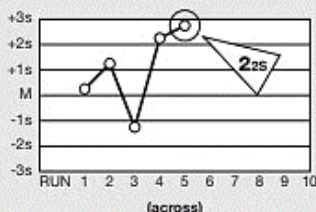
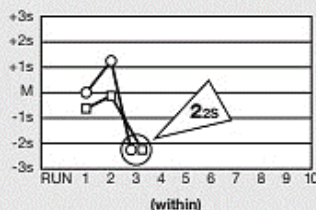
1_{3s} Esta regla detecta el error aleatorio. La violación de esta regla también puede señalar un error sistemático. La corrida es considerada fuera de control cuando un valor control excede la media $\pm 3s$. Esta regla se aplica únicamente dentro de la corrida.



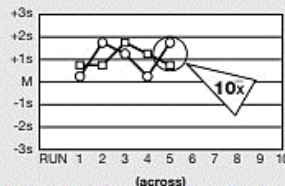
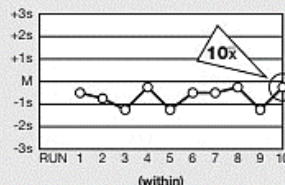
4_{1s} Esta regla detecta el error sistemático y se aplica tanto a los controles de intra o inter ensayo. Esta regla es violada en control intra ensayo cuando los últimos cuatro valores control del mismo nivel de control exceden el "mismo" límite (media +1s) o (media -1s). La regla se viola en controles inter ensayo cuando los últimos cuatro valores control consecutivos para diferentes niveles de control exceden el "mismo" límite (media +1s) o (media -1s). Esta regla no requiere rechazo de la corrida. Pero puede ser un indicador para realizar el mantenimiento del instrumento o calibración del instrumento/equipo.



2_{2s} Esta regla detecta el error sistemático. Debe aplicarse dentro de las corridas inter ensayo. Esta regla es violada dentro de la corrida cuando dos valores consecutivos del control (o 2 de 3 valores control cuando se corren 3 niveles) exceden el "mismo" límite (media +2s) o (media -2s). La regla es violada entre las corridas cuando un valor previo para un nivel particular del control excede el "mismo" límite (media +2s) o (media -2s).



10_{x̄} Esta regla detecta el error sistemático y se aplica tanto a los controles de intra e inter ensayo. La regla es violada de controles inter ensayo cuando los últimos 10 valores consecutivos, sin importar el nivel, están en el mismo lado de la media. La regla es violada con los controles intra ensayo cuando los 10 últimos valores del mismo nivel de control están todos en el mismo lado de la media. Esta regla puede modificarse a 9 réplicas cuando se corren tres niveles de control, u 8 réplicas cuando se corren 4 niveles de control. Esta regla no requiere de rechazo de la corrida. Pero puede ser un indicador para realizar el mantenimiento del instrumento o calibración del instrumento/equipo.



R_{4s} Esta es una regla "rango" y detecta el error aleatorio. Esta regla es aplicada solamente dentro de la corrida. Esta regla es violada cuando la diferencia de la desviación estándar entre dos valores control consecutivos (o 2 de 3 valores control cuando se corren los 3 niveles) exceden 4s.

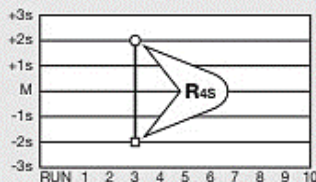


Imagen 84. Reglas de Westgard (Cooper W, 2007).

Actividad: en el área de serología del banco de sangre se cuenta con varios controles para cada uno de los marcadores serológicos, uno de ellos el anti-HBsAg (para la detección del virus de la hepatitis B), arrojo los siguientes resultados durante la corrida de todo el mes, los datos están en unidades relativas de luz.



4.2	7.8	5.5	6.6	8.7	5.2	4.4	2.4	7.1	5.8
4.0	4.3	3.4	8.0	6.0	5.5	3.3	5.0	8.0	4.2
5.0	5.3	4.8	6.6	6.1	5.0	2.5	4.0	5.2	

- 1) Utilizando las fórmulas, calcule la media, la desviación estándar y los límites de control para este marcador estudiado, anote el procedimiento en el apartado de resultados y llene la tabla número 45.
- 2) Grafique los datos en una hoja y péguela en el espacio en blanco del apartado de resultados, puede hacerlo a mano o utilizar una hoja de Excel.
- 3) Evalúe las reglas de Westgard e indique si el control es aceptado o rechazado en la tabla número 46.

RESULTADOS.

Coloque el procedimiento para el cálculo de la media, desviación estándar y los límites de control.





Tabla 45. Cálculos estadísticos.

Media	Desviación estándar	Límite +1s y -1s	Límite +2s y -2s	Límite +3s y -3s

Pegue aquí su grafica de Levey-Jennings.

Tabla 46. Evaluación de las reglas de Westgard.

Regla de Westgard violada	Acción tomada para solucionarlo

Control de calidad para anti-HBsAg _____



BIBLIOGRAFÍA

- Cooper W. (2007). Sistemas de control de calidad básico e intermedio para el laboratorio clínico. México: Bio-Rad Laboratories.
- Bio-Rad Laboratories. (2009). Uso del control de calidad. México.
- Westgard J. (2013). Practicas básicas de control de calidad. Madison WI, U.S.A: QC Westgard Inc.





Práctica No. 21

Control de calidad de antisueros hemoclasificadores.**INTRODUCCIÓN**

Cuando un anticuerpo se encuentra con su antígeno específico, da como resultado una reacción antígeno-anticuerpo. Esta reacción se establece por uniones no covalentes, sino por uniones que son de baja estabilidad, pero de energía considerable de unión.

La fuerza de unión entre un anticuerpo y un antígeno se denomina **afinidad del anticuerpo**. Esta viene dada por la suma de las fuerzas de los enlaces que intervienen en dicha unión. En definitiva, la afinidad es una expresión de la atracción existente entre las moléculas del antígeno y las del anticuerpo. Pero los anticuerpos son multivalentes, es decir que tienen, al menos, dos zonas de unión con el antígeno. Y los antígenos también pueden ser multivalentes, ya que pueden poseer varios sitios de anclaje a los anticuerpos. La fuerza con la que un anticuerpo multivalente se une a un antígeno multivalente se conoce como **avidez**. La avidez es, pues, una medida de la estabilidad del complejo antígeno multivalente-anticuerpo multivalente. Cuando un anticuerpo solo es capaz de reaccionar contra un antígeno, se dice que ese anticuerpo es muy específico para ese antígeno. Pero muchas veces, varios antígenos pueden compartir uno o más determinantes antigénicos idénticos o similares. En este caso, un mismo anticuerpo puede reaccionar con todos esos antígenos y se considera que su **especificidad** es baja. A este último fenómeno se le llama reactividad cruzada (Rubio F, et al. 2016). Finalmente, el **título** de los sueros hemoclasificadores, se refiere a la última dilución seriada que da una reacción positiva en la prueba de aglutinación.

Los sueros comerciales para la tipificación del sistema ABO, son anticuerpos IgM monoclonales obtenidos a partir de hibridomas de ratón que están suspendidos en una solución tampón. Mientras que el suero para la tipificación del sistema Rh, es un anticuerpo IgM policlonal obtenidos de ratones. El suero de Coombs está compuesto por anticuerpos monoclonales de la clase IgG.

Para la obtención de anticuerpos policlonales se utilizan animales de bioferro de un laboratorio, o también pueden ser en caballos o cabras, inyectando un antígeno específico (**inmunización**). Este animal producirá una respuesta inmune ante la presencia de ese antígeno, creando anticuerpos específicos para éste por los linfocitos B. Una vez que el animal crea estos anticuerpos **policlonales, (se denominan así porque pueden reconocer una gran variedad de epítomos pertenecientes al antígeno y porque son creadas por distintas clonas de linfocitos B)** se pueden obtener del plasma en un antisuero, que es el suero completo del animal y purificarse. Algunas características de los anticuerpos policlonales son:

- Reconocen múltiples epítomos del antígeno, lo que los hace más tolerantes a cambios pequeños que pudiera tener el antígeno.
- Se pueden crear a partir de distintas especies animales, como: ovejas, gallos, conejos, ratones, o cabras.
- Como se unen a múltiples epítomos, generan una detección más amplia.

En la siguiente imagen se observa de forma muy general la obtención de estos anticuerpos policlonales.



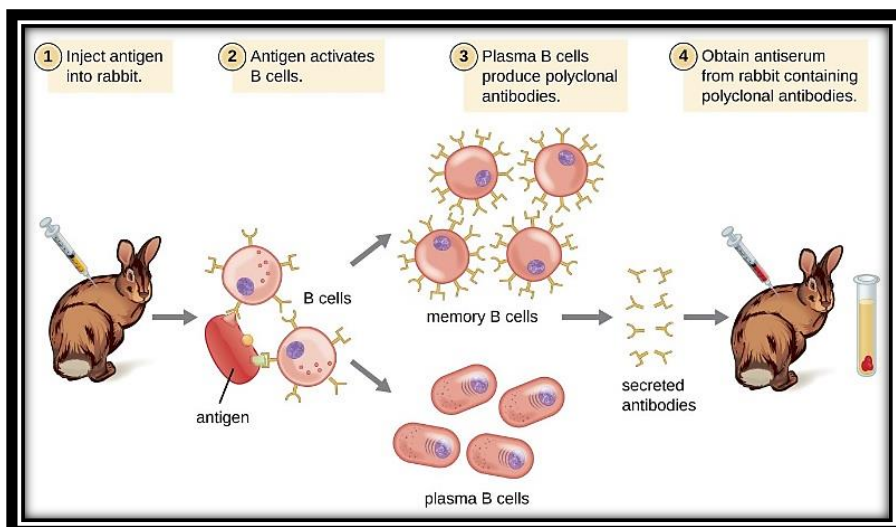


Imagen 85. Obtención de anticuerpos policlonales a partir de un conejo. Extraída de: <https://bit.ly/2Lu6MLj>.

Mientras los anticuerpos policlonales son múltiples anticuerpos producidos por diferentes tipos de células inmunes que reconocen el mismo antígeno, los anticuerpos monoclonales son creados por una única línea celular. Los anticuerpos monoclonales se producen *in vitro* usando técnicas de cultivo celular. Cuando se termina de inmunizar al animal, por varias semanas, se extrae el bazo del mismo, que contiene células B, pero como éstas no pueden durar para siempre se fusionan con células cancerígenas. El resultado de esta fusión celular es llamado "hibridoma", que continúa con la producción de anticuerpos indefinidamente (Buchwalow I, Böcker W. 2010). En la siguiente imagen se observa, de manera general, la obtención de anticuerpos monoclonales.

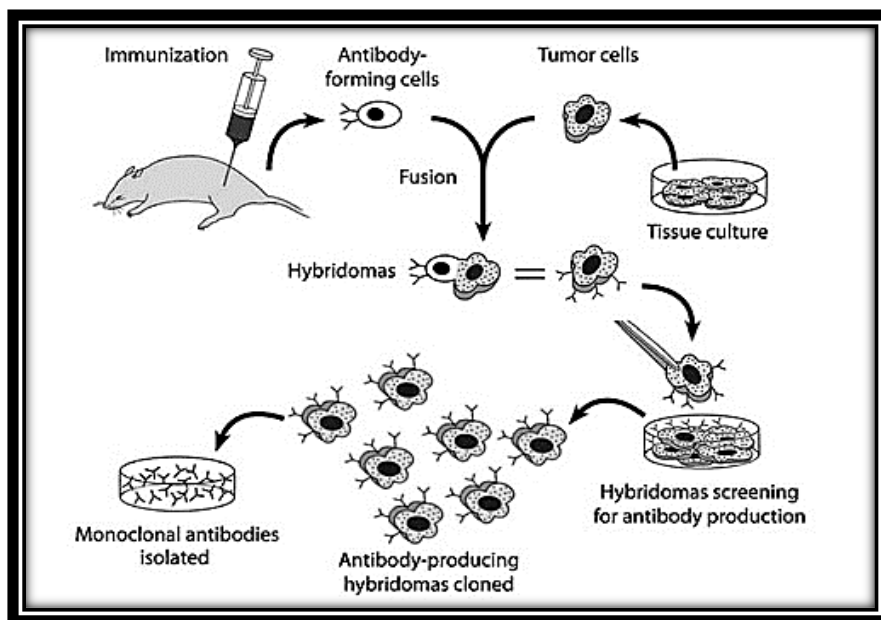


Imagen 86. Obtención de anticuerpos monoclonales. (Buchwalow I, Böcker W. 2010).

En la normativa nacional se establece que todos los laboratorios deben aplicar programas de control de calidad, asegurar el proceso desde la obtención de muestras hasta la emisión de

resultados. El control de calidad de los antisueros deberá de comenzar por el registro cada día de uso. Lo primero que debe hacerse es revisar en el inserto, la fecha de caducidad y número de lote. Los parámetros a controlar son: **aspecto físico, efectuar prueba de avidéz, prueba de especificidad, y titulación** (Rodríguez L, 2017).

La NOM-253-SSA1-2012, establece que para cada lote nuevo de reactivos deberá someterse a un proceso **interno de inspección**, a fin de verificar si cumplen o no con las características requeridas por el laboratorio del establecimiento y las indicadas por el fabricante. Para verificar el funcionamiento adecuado de los reactivos, éstos deberán de ser probados en forma regular, empleando muestras representativas de cada lote y con la periodicidad que se indica en la siguiente imagen:

Reactivos	Criterios para su valoración y aceptación	Periodicidad de comprobación
Antisueros hemoclasificadores para determinar grupos sanguíneos ABO y Rh (D).	1. Aspecto físico: Ausencia de turbidez, precipitados, partículas, formación de geles en el sobrenadante o cualquier otra anomalía.	Cada día de uso.
	2. Titulación: se llevará a cabo de conformidad con la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (véase apartado 22.8 de esta Norma).	Al estreno del lote con una muestra aleatoria de éste.
	3. Avidéz: Se realizará cuando utilicen la prueba en placa o en tubo. Los tiempos máximos para el inicio de la aglutinación de los eritrocitos del fenotipo conocido se indican en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (véase apartado 22.8 de esta Norma).	Cada día de uso.
	4. Especificidad: Se realizará conforme a lo indicado en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (véase apartado 22.8 de esta Norma). Para los antisueros hemoclasificadores ABO se usarán células A ₁ , A ₂ , B y O; para los del Rh se emplearán células R1r y rr.	
Antiglobulina humana (para la prueba de Coombs).	Especificidad con eritrocitos sensibilizados con lo que se indica a continuación a) Con inmunoglobulina G; b) Con eritrocitos con C3b, C3d o ambos, y c) Con eritrocitos no sensibilizados.	Cada día de uso.

Imagen 87. Control de calidad en antisueros hemotipificadores. NOM-253-SSA1-2012

OBJETIVO

Que el alumno realice el control de calidad interno de antisueros hemotipificadores, mediante las pruebas de titulación, especificidad y avidéz, de acuerdo a lo establecido en la NOM-253-SSA1-2012, para garantizar que los reactivos funcionen de manera correcta.

MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS.**MATERIAL.**

Gradilla para tubos de ensaye.
 Tubos de ensaye de 12x75 mm.
 Equipo necesario para realizar la venopunción por sistema al vacío.
 Papel absorbente.
 Pipetas Pasteur.
 Aplicadores de madera.
 Placas de vidrio.

EQUIPOS.

Centrífuga clínica.

REACTIVOS.

Antisuero hemotipificador anti-A.
 Antisuero hemotipificador anti-B.
 Antisuero hemotipificador anti-AB.
 Antisuero hemotipificador anti-A1.
 Antisuero hemotipificador anti-H.
 Antisuero hemotipificador anti-D.
 Suero de Coombs.
 Eritrocitos sensibilizador y no sensibilizados.

CONTENIDO.**21.1 VERIFICACIÓN DEL ASPECTO FÍSICO DE LOS ANTISUEROS.**

Todos los reactivos que se utilicen en el laboratorio, deben revisarse físicamente, no deben presentar hemólisis, turbidez, precipitados, partículas, formación de geles en el sobrenadante, contaminación bacteriana o cualquier otra anomalía (Rodríguez L, 2017).



Imagen 88. Antisueros hemoclasificadores. Normalmente los antisueros tienen un color específico, el anti-A es de color azul, el anti-B es amarillo, el anti-AB es de color traslucido junto con el anti-D, el suero de Coombs o anti-IgG es turquesa. Extraída de: <https://bit.ly/2xsPNGn>.

Actividad: anotar en la tabla número 49, dentro del apartado correspondiente de **resultados**, el aspecto que presentó cada uno de los antisueros, por ejemplo, si presentaron hemólisis o cúmulos. Anotar también el número de lote y fecha de caducidad de cada uno de los antisueros.



Interpretación de resultados: si los antisueros hemotipificadores no presentan alteraciones y se encuentran dentro de la fecha de caducidad, se acepta el control de calidad para las características físicas.

21.2 PRUEBA DE AVIDEZ PARA ANTISUEROS ANTI-A, ANTI-B, ANTI-AB y ANTI-D.

Fundamento:

La avides es el tiempo, en segundos, que tarda en reaccionar un anticuerpo con su antígeno correspondiente a temperatura ambiente (de 18-22°C). Para la realización de la prueba de avides del anti-D es importante revisar las especificaciones del reactivo, podría ser necesario calentar a 37°C la placa (Rodríguez L, 2017).

Técnica:

Nota: para la realización del control de calidad se deben de utilizar células conocidas proporcionadas por un fabricante. De no contar con ellas, se procede de la siguiente manera:

- I. Realizar una venopunción por la técnica de sistema al vacío, para obtener un tubo de sangre completa anticoagulada con EDTA (tubo de tapón lila), de personas con grupo sanguíneo conocido como **“A”, “B”, “AB” y “O positivo”**
- II. Centrifugar los tubos a 2500 rpm durante 10 minutos.
- III. Rotular 4 tubos de ensaye de 12x75 mm como “eritrocitos A”, “eritrocitos B”, “eritrocitos AB”, y uno último como “Rh +”.
- IV. Con ayuda de la pipeta Pasteur, tomar un poco de eritrocitos de cada uno de los grupos sanguíneos anteriores y colocarlos su tubo, respectivo.
- V. Hacer tres lavados de los eritrocitos con Solución Salina Fisiológica (SSF).
- VI. Rotular 4 tubos de ensaye de 12x75 mm como “eritrocitos A”, “eritrocitos B”, “eritrocitos AB”, y uno último como “Rh +”.
- VII. A partir de los eritrocitos lavados, preparar una suspensión al 10% con 2 mL de SSF de cada uno de los grupos sanguíneos A, B Y AB. De igual manera, preparar una suspensión de eritrocitos al 40% del factor Rh positivo.
- VIII. Preparar una suspensión de eritrocitos al 40% con 2 mL de SSF a partir del concentrado eritrocítico lavado, factor Rh positivo.

Nota: En una placa de vidrio que contenga círculos marcados, etiquetar con el plumón indeleble, cada uno de las células conocidas que se emplearán, que son: Células A, células B, células AB y Rh+

- IX. **Con una pipeta Pasteur, añadir una gota de la suspensión de eritrocitos al 10% del grupo sanguíneo “A”, “B”, “AB”, respectivamente al etiquetado en la placa de vidrio.**
- X. **Añadir una gota del antisuero hemotipificador, según corresponda a las células conocidas.**
- XI. Mezclar con un aplicador de madera en forma de círculos 10 veces.
- XII. Rotar la placa de lado a lado. Se debe tomar el tiempo con un cronometro desde el momento de la mezcla con los aplicadores hasta el momento es que aparece la aglutinación.
- XIII. En otro espacio dentro de la placa, con una pipeta Pasteur añadir una gota de la suspensión de eritrocitos al 40% de factor Rh positivo, a una placa de vidrio limpia.
- XIV. Añadir una gota del antisuero anti-D sobre la gota anterior.
- XV. Mezclar con un aplicador de madera en forma de círculos 10 veces ambas gotas.



- XVI. Rotar la placa de lado a lado. Se debe tomar el tiempo con un cronometro desde el momento de la mezcla con los aplicadores hasta el momento es que aparece la aglutinación.

Actividad: anotar en la tabla número 50, dentro del apartado correspondiente de **resultados**, el tiempo total transcurrido, en segundos, para cada uno de los antisueros hemoclasificadores.

En la siguiente imagen, se observa el procedimiento resumido de la técnica de avidéz.

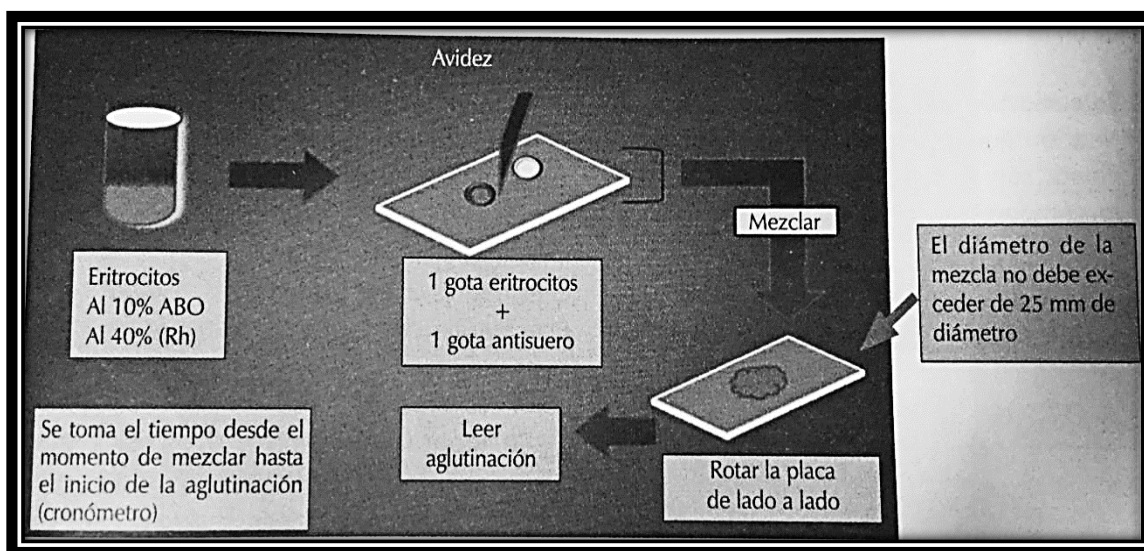


Imagen 89. Técnica de avidéz. (Rodríguez L, 2017).

21.3 PRUEBA DE ESPECIFICIDAD.

Fundamento.

Esta prueba está basada en la característica que presentan los anticuerpos al reaccionar únicamente con su antígeno específico.

Técnica.

Nota: para la realización del control de calidad se deben de utilizar células conocidas proporcionadas por un fabricante. De no contar con ellas, se procede de la siguiente manera:

- I. Realizar una venopunción por la técnica de sistema al vacío, para obtener un tubo de sangre completa anticoagulada con EDTA (tubo de tapón lila), de personas con grupo sanguíneo conocido como **“A1”, “A2”, “B”, “O”, “D positivo” y “D negativo”**
- II. Centrifugar los tubos a 2500 rpm durante 10 minutos.
- III. **Rotular 6 tubos de ensayo de 12x75 mm como “eritrocitos A1”, “eritrocitos A2”, “eritrocitos B”, “O”, “D +” y uno último como “D -”.**
- IV. Con ayuda de la pipeta Pasteur, tomar un poco de eritrocitos de cada uno de los grupos sanguíneos anteriores y colocarlos su tubo, respectivo.
- V. Hacer tres lavados de los eritrocitos con Solución Salina Fisiológica (SSF).



- VI. **Rotular 4 baterías de tubos de ensaye, cada batería constará de 5 tubos de ensaye de 12x75 mm. Etiquetados cada uno como anti-A, anti-B, anti-AB, anti-A1 y anti-H.**
- VII. **Con ayuda de la pipeta Pasteur, añadir 1 gota de suspensión de eritrocitos del 2-5% del grupo sanguíneo A1 para la primera batería de tubos, enseguida, a la segunda batería de tubos añadir una gota del grupo sanguíneo A2, a la tercera batería, añadir una gota del grupo sanguíneo B y finalmente, a la cuarta batería, añadir una gota del grupo sanguíneo O.**
- VIII. Añadir 1 gota de cada uno de los antisueros hemotipificadores, conforme a su tubo previamente etiquetado.
- IX. **Rotular 4 tubos de ensaye de 12x75 mm como anti-D+, anti-D- y, además, añadir su respectivo control negativo.**
 - X. Añadir 1 gota del antisuero anti-D a los primeros dos tubos respectivos.
 - XI. Añadir 1 gota de suspensión de eritrocitos del 2-5% del grupo **sanguíneo D positivo** al tubo anti-D+, más una gota extra para su respectivo control negativo. Después añadir 1 gota del grupo **sanguíneo D negativo**, al tubo anti-D-, más una gota al tubo extra para su respectivo control negativo.
 - XII. Enseguida, añadir una gota del control negativo del anti-D a sus tubos respectivos.
 - XIII. El profesor proporcionará una suspensión de eritrocitos sensibilizados y no sensibilizados del 2-5%. Etiquetar dos tubos de ensaye de 12x75 mm como "sensi" y "no sensi".
 - XIV. Añadir dos gotas de la suspensión de **eritrocitos sensibilizados del 2-5%** al tubo etiquetado como "sensi" y dos gotas de la suspensión de **eritrocitos no sensibilizados del 2-5%** al tubo etiquetado como "no sensi".
 - XV. Mezclar todos los tubos ligeramente.
 - XVI. Centrifugar 15 segundos a 3500 rpm.
 - XVII. Leer la presencia o ausencia de aglutinación.

Interpretación de resultados: cada uno de los antisueros hemotipificadores debe de presentar aglutinación para cada uno de sus antígenos correspondientes, en la siguiente imagen se expresa como debe de ser la aglutinación, se marca una (+) para saber que es positiva y un (-) indicando que es negativa.

Tabla 47. Especificidad para cada uno de los antisueros hemotipificadores.

	Antisuero anti-A	Antisuero o anti-B	Antisuero anti-AB	Antisuero anti-A1	Antisuero anti-H	Antisuero anti-D	Suero de Coombs
Grupo sanguíneo A1	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)		
Grupo sanguíneo A2	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)		
Grupo sanguíneo B	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)		
Grupo sanguíneo O	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)		
Grupo sanguíneo D positivo						(+)	
Grupo sanguíneo D negativo						(-)	
Eritrocitos sensibilizados							(+)
Eritrocitos no sensibilizados							(-)

De ser la aglutinación positiva para cada uno de los antisueros correspondientes, indica que el antisuero pasa el control de calidad.

Actividad: anotar en la tabla número 51, dentro del apartado correspondiente de **resultados**, si se presentó la reacción de aglutinación.



21.4 PRUEBA DE TITULACIÓN.

Fundamento.

La titulación es un método semicuantitativo que se emplea para determinar la concentración de los reactivos analíticos o comparar la intensidad de la expresión antigénica en distintas muestras de glóbulos rojos (Aronson C, et al. (2012).

Técnica.

- I. La prueba de titulación debe realizarse para cada uno de los antisueros hemoclasificadores.
- II. Realizar diluciones seriadas de cada uno de los antisueros hemotipificadores de la siguiente manera.
- III. Etiquetar 10 tubos de ensaye de 12x75 mm para realizar las diluciones seriadas. Anotar el primer tubo como "suero puro" (SP), a partir del segundo tubo, etiquetarlos del 2 al 10.
- IV. Con la pipeta Pasteur, agregar dos gotas de SSF a todos los tubos del 2 al 10.
- V. Al tubo número 1, agregar dos gotas del suero hemotipificador.
- VI. Mezclar.
- VII. A partir del tubo número 1 haremos las diluciones seriadas. Tomar con una pipeta Pasteur dos gotas del tubo inicial y pasarlos al tubo número 2 (en este momento se hace una dilución 1:2). Mezclar.
- VIII. Del tubo número 2, tomar dos gotas y pasarlos al tubo 3 (en este momento se hace una dilución 1:4).
- IX. Continuar así sucesivamente hasta el último tubo, del cual se deben tomar 2 gotas y desecharlos en la palangana de residuos.

En la siguiente imagen se observa este proceso en general para hacer las diluciones seriadas.

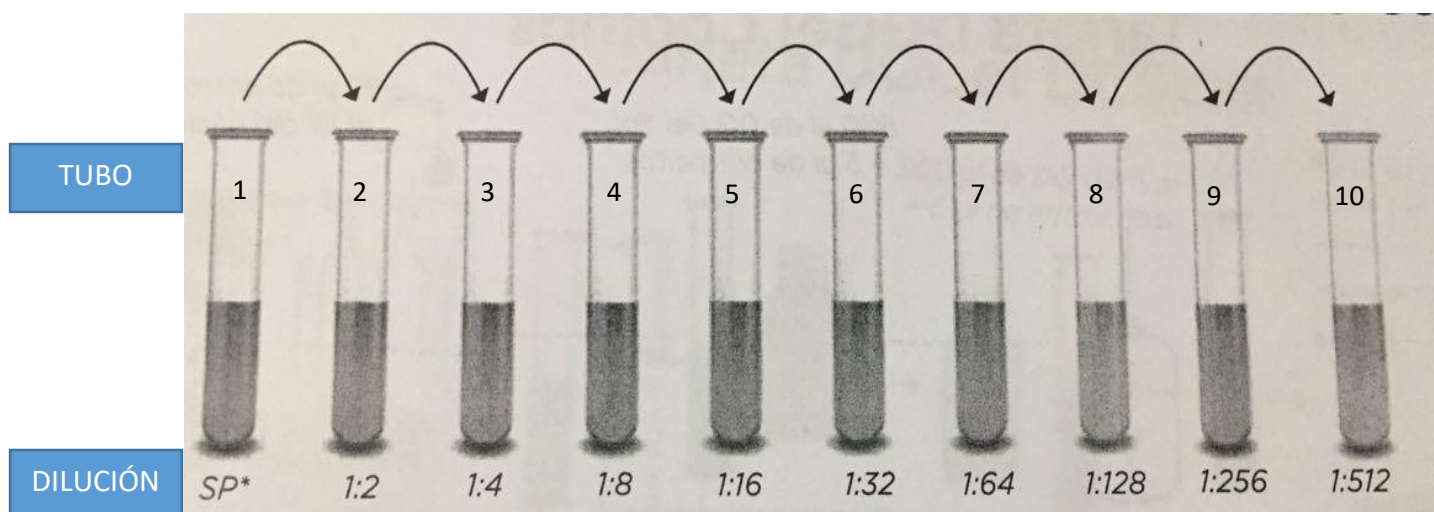


Imagen 90. Diluciones seriadas. LICON, 2015.

NOTA: Preparar una suspensión de eritrocitos del 2-5% lavados. Esta preparación dependerá del tipo de antisuero del cual se verificará su control de calidad. Es decir, si se realizará el control de calidad del antisuero hemotipificador anti-A, se debe preparar la suspensión de eritrocitos del 2-5% del grupo sanguíneo A.



- X. Agregar 2 gotas de la suspensión de eritrocitos del 2-5% a cada uno de los tubos anteriores.
- XI. Mezclar y centrifugar a 3400 rpm durante 30 segundos.
- XII. Leer la presencia o ausencia de aglutinación en todo el panel de tubos.
- XIII. Hacer la lectura de acuerdo a la siguiente tabla:

Tabla 48. Intensidad de la aglutinación en tubo.

Intensidad de la aglutinación	Puntaje
Agregado grande	4+
Agregados grandes y se observan agregados más chiquitos	3+
Agregados pequeños	2+
Los agregados casi no se observan pero los hay	1+
No hay agregados (sin aglutinación)	Negativo

Interpretación de resultados.

Para saber cuál es el título del anticuerpo, se debe anotar cual fue la última dilución del tubo en donde aún se llega a observar la reacción de aglutinación, así pues, el título será el recíproco de esta dilución. Por ejemplo: si la última dilución donde aglutina es 1:64, el **título del anticuerpo** será: 64.

Actividad: anotar en la tabla número 52, dentro del apartado correspondiente de **resultados**, el título que presentó el antisuero hemotipificador.

RESULTADOS.

Tabla 49. Aspecto físico de los antisueros hemotipificadores.

Antisuero	Características físicas visibles.	Fecha de caducidad	número de lote	Pasa o no control de calidad
Anti-A				
Anti-B				
Anti-AB				
Anti-D				
Anti-A1				
Anti-H				





Anti-globulina IgG humana				
----------------------------------	--	--	--	--

Tabla 50. Prueba de avidéz.

Antisuero	Tiempo transcurrido en segundos.
Anti-A	
Anti-B	
Anti-AB	
Anti-D	

Tabla 51. Prueba de especificidad.

	Antisuero anti-A	Antisuero anti-B	Antisuero anti-AB	Antisuero anti-A1	Antisuero anti-H	Antisuero anti-D	Suero de Coombs
Grupo sanguíneo A1							
Grupo sanguíneo A2							
Grupo sanguíneo B							
Grupo sanguíneo O							
Grupo sanguíneo O positivo							
Grupo sanguíneo O negativo							
Eritrocitos sensibilizados							
Eritrocitos no sensibilizados							

Tabla 52. Prueba de Titulación.

	Última dilución donde aglutinó	Título del antisuero.
Antisuero hemotipificador		

BIBLIOGRAFIA

- Aronson C, et al., (2012). Manual técnico de la Asociación Americana de Bancos de Sangre. Buenos aires, Argentina: Asociación argentina de hemoterapia e Inmunohematología.
- Buchwalow I, Böcker W. (2010). Immunohistochemistry: Basics and Methods. Münster, Alemania: Springer.
- LICON. (2015). Manual de técnicas de inmunohematología. México.
- Rubio F, et al., (2016). Técnicas de inmunodiagnóstico. Madrid, España: Paraninfo.



MANEJO DE RESIDUOS.

Tubos vacutainer con sangre.

Bolsas rojas de polipropileno.

Tubos con muestra biológica (coágulos, plasma o suero).

Se desechan en palanganas con hipoclorito de sodio al 1%

Tubos con soluciones de reacción.

Se desechan en palanganas con hipoclorito de sodio al 1%





Práctica No. 23

Control de calidad de hemocomponentes.**INTRODUCCIÓN.**

Un primer objetivo de la medicina transfusional, es promover altos estándares o normas de calidad en todos los aspectos relacionados con los cuidados del paciente y obtención de productos y servicios. Históricamente, los servicios de transfusión y centros de donación han utilizado varias medidas de Control de Calidad como estándar de práctica en sus operaciones. Los ejemplos incluyen control de calidad a reactivos, controles administrativos, inspecciones visuales y mediciones tales como lectura de la temperatura de equipos de refrigeración y el volumen o el recuento de células realizado en los componentes de la sangre terminados. Para asegurar la calidad de los hemocomponentes, se deben de desarrollar documentos operativos estándares, con esto también se asegura que se lleven a cabo los procesos de forma correcta y consistente, la capacitación del personal y certificación de materiales y equipos (Aronson C, et al. 2012).

Es importante tener en cuenta el deterioro que se presenta en la sangre total y componentes sanguíneos, por lo que es indispensable el control estricto desde la valoración y sangrado del donador, el tiempo transcurrido entre la recolección, almacenamiento previo y traslado de las unidades desde el sitio de captación al sitio de preparación, conservación, hasta consumir el acto transfusional. La sangre y los componentes sanguíneos sufren las llamadas lesiones de almacenamiento que es necesario tomar en cuenta para la utilización de estos productos (López A, 2007).

El control de hemocomponentes, incluye también el control microbiológico. Las fuentes de contaminación por bacterias incluyen la piel del donador, la sangre donada, los dispositivos usados en su preparación y el ambiente de colección y preparación. Por esta razón, las medidas de prevención que se pueden implementar incluyen: preparación cuidadosa del bazo del donador, implementar estudios de laboratorio para detección de crecimiento bacteriano (Rivera M, et al. 2011).

Los casos de contaminación, en su mayoría se deben a microorganismos Gram negativos, más específicamente *Yersinia enterocolitica* y *Pseudomonas fluorescens*, para el caso de eritrocitos, pues ambas bacterias tienen la capacidad de crecer a esas temperaturas de almacenamiento. Mientras que, para el caso de aféresis, la persona está conectada durante un tiempo prolongado, si no se realiza una correcta asepsia y antisepsia, la contaminación bacteriana es posible. Un gran número de microorganismos relacionados con la sepsis por transfusión de plaquetas incluyen las bacterias de la microbiota normal de la piel (*Staphylococcus* spp.), otros comensales como *Corynebacterium* spp., contaminantes ambientales (*Pseudomonas* spp.) y organismos entéricos, por ejemplo; *Escherichia coli* o *Salmonella* spp (Rivera M, et al. 2011).

Las bacterias son microorganismos unicelulares, son de vida libre, a excepción de algunas que son de vida intracelular obligada. Tienen los mecanismos productores de energía y el material genético necesarios para su desarrollo y crecimiento. En el banco de sangre, para la identificación de bacterias patógenas, se utilizan medios de cultivo.





Los medios se clasifican de acuerdo con su función y su uso. En bacteriología diagnóstica hay cuatro categorías generales de medios: de enriquecimiento, nutritivo, selectivo y diferencial. Los medios de **enriquecimiento**, contienen nutrientes específicos requeridos para el crecimiento de determinados patógenos bacterianos que pueden estar presentes solos o con otras especies de bacterias en la muestra de un paciente. Estos medios se utilizan para favorecer el desarrollo de un patógeno bacteriano determinado, a partir de una mezcla de microorganismos mediante el uso de especificidad de nutriente. Los **medios nutritivos** contienen nutrientes que favorecen el desarrollo de la mayoría de los microorganismos sin requerimientos especiales de cultivo. Sin promover de manera especial el crecimiento de un microorganismo particular. Los **medios selectivos** contienen uno o más agentes que inhiben a todos los microorganismos excepto a los que se buscan. En otras palabras, estos medios seleccionan el crecimiento de ciertas bacterias e inhiben el de otras. Los agentes inhibidores utilizados para este propósito son colorantes, sales biliares, alcoholes, ácidos y antibióticos. Los **medios diferenciales** contienen un factor (o factores) que permiten que las colonias de una especie o un tipo bacteriano exhiban ciertas características metabólicas o de un cultivo que puedan utilizarse para diferenciarlas de otras bacterias que crecen en un mismo agar placa (Forbes B, et al. 2007).

Para entender mejor el control de calidad de hemocomponentes, la NOM-253-SSA1-2012, podemos encontrar las siguientes definiciones de los productos sanguíneos:

- **Concentrado de eritrocitos en solución aditiva:** unidad que contiene mayoritariamente glóbulos rojos, obtenidos por fraccionamiento de una unidad de sangre total de una donación única o de una sesión de aféresis a la que se añade una solución nutritiva o conservadora.
- **Concentrado de eritrocitos en solución aditiva sin la capa leucoplaquetaria:** unidad de glóbulos rojos de la que se ha eliminado gran parte de la capa donde se localizan los leucocitos y las plaquetas.
- **Concentrado de eritrocitos leucodepletado:** unidad de glóbulos rojos sometida a eliminación de leucocitos hasta una cifra igual o menor de un millón por unidad, desde su extracción mediante aféresis o mediante técnicas de filtrado.
- **Concentrado de eritrocitos lavados:** unidad de glóbulos rojos de la que se ha removido en proporción suficiente el plasma y la capa leucoplaquetaria mediante enjuagues sucesivos con solución salina isotónica.
- **Concentrado de eritrocitos congelados:** unidad de glóbulos rojos en una solución de glicerol, como agente preservador, que permite conservarlos a bajas temperaturas e incrementar su periodo de vigencia.
- **Concentrado de plaquetas unitario o recuperado:** unidad que contiene trombocitos en suspensión, obtenida mediante fraccionamiento de una unidad de sangre total.
- **Concentrado de plaquetas leucodepletado:** unidad o mezcla de trombocitos sometidas a eliminación de glóbulos blancos hasta una cifra igual o menor de un millón por unidad, desde su extracción mediante aféresis o mediante técnicas de filtrado.
- **Concentrado de plaquetas lavadas:** unidad o mezcla con trombocitos recuperados u obtenidos por aféresis, de la que se ha removido en proporción suficiente el plasma mediante enjuagues sucesivos con solución salina isotónica con o sin amortiguador.





OBJETIVO.

El alumno reconocerá el control de calidad de hemocomponentes como un paso fundamental en la medicina transfusional, mediante lo establecido en la NOM-253-SSA1-2012.

CONTENIDO.

22.1 CONTROL DE CALIDAD DE SANGRE TOTAL.

El uso de la sangre total está limitado, pues debe darse prioridad a la obtención de hemocomponentes. Los requisitos de calidad que deberán tener las unidades de sangre total, que fuesen a emplearse con fines terapéuticos, verificadas con el número de unidades y la frecuencia indicados, se muestra en la siguiente imagen (NOM-253-SSA1-2012):

Requisitos que deberán reunir el 100% de las unidades de sangre total probadas

Parámetro	Especificación	Cantidad de unidades y frecuencia de verificación
Volumen	450 mL \pm 10%, excluyendo el anticoagulante	1% o cuatro unidades al mes, lo que sea mayor
Hemoglobina (sólo en las unidades que fuesen a usarse en transfusión)	\geq 45 g por unidad	1% o cuatro unidades al mes, lo que sea mayor
Hemólisis al término de la vigencia (véase Nota al pie de esta tabla)	< 0.8% de la masa eritrocítica	Mínimo cuatro unidades al mes
Control bacteriológico, únicamente cuando las unidades de sangre total fuesen a transfundirse sin fraccionar.	Sin desarrollo	1% o cuatro unidades al mes, lo que sea mayor

Nota: La hemólisis al término de la vigencia podrá evaluarse mediante técnicas validadas tales como cuantificación de hemoglobina libre o por determinación de azidametahemoglobina.

Imagen 91. Requisitos que deberán reunir el 100% de las unidades de sangre total probadas. NOM-253-SSA1-2012.

22.2 CONTROL DE CALIDAD DE CONCENTRADOS ERITROCITARIOS.

Los concentrados eritrocitarios se utilizan para suplir las pérdidas sanguíneas y para tratamiento paliativo de algunas anemias. Todas las unidades de concentrados eritrocitarios deberán prepararse removiendo la capa leucoplaquetaria (al momento de centrifugar la sangre esta capa queda intermedia entre el concentrado de eritrocitos y el plasma). Los requisitos de calidad que deberán tener los concentrados de eritrocitos, verificados con el número de unidades y la frecuencia indicada, se muestra en la siguiente imagen (NOM-253-SSA1-2012).

8.3.3.2 Concentrado de eritrocitos sin capa leucoplaquetaria		
Parámetro	Especificación	Cantidad de unidades y frecuencia de verificación
Volumen	De acuerdo a las especificaciones del fabricante	1% o cuatro unidades al mes, lo que sea mayor
Hematocrito (véase nota al pie de esta tabla)	65 – 75%	Mínimo cuatro unidades al mes
Hemoglobina	≥43 g por unidad	
Leucocitos	<1.2 x 10 ⁹ por unidad (en el 90% de las unidades probadas)	
Hemólisis al término de la vigencia (véase Nota al pie de la tabla 14)	<0.8% de la masa eritrocítica	
Control bacteriológico al final del procesamiento	Sin desarrollo	1% o cuatro unidades al mes, lo que sea mayor

Imagen 92. Control de calidad para concentrados eritrocitarios sin capa leucoplaquetaria. NOM-253-SSA1-2012.

El control de calidad para **concentrados eritrocitarios en solución aditiva** se describe en la siguiente imagen:

8.3.3.4 Concentrado de eritrocitos sin capa leucoplaquetaria en solución aditiva		
Parámetro	Especificación	Cantidad de unidades y frecuencia de verificación
Volumen	De acuerdo a las especificaciones del fabricante	1% o cuatro unidades al mes, lo que sea mayor
Hematocrito (véase nota al pie de esta tabla)	50 – 70%	Mínimo cuatro unidades al mes
Hemoglobina	≥43 g por unidad	
Leucocitos residuales	<1.2 x 10 ⁹ por unidad (en el 90% de las unidades probadas)	
Hemólisis al término de la vigencia (véase Nota al pie de la tabla 14)	< 0.8% de la masa eritrocítica	
Control bacteriológico al final del procesamiento	Sin desarrollo	1% o cuatro unidades al mes, lo que sea mayor

Imagen 93. Control de calidad para concentrados eritrocitarios en solución aditiva. NOM-253-SSA1-2012.



El control de calidad para **concentrados eritrocitarios leucodepletados en solución aditiva** se describe en la siguiente imagen.

8.3.3.5 Concentrado de eritrocitos leucodepletados en solución aditiva		
Parámetro	Especificación	Cantidad de unidades y frecuencia de verificación
Volumen	De acuerdo a las especificaciones del fabricante	1% o cuatro unidades al mes, lo que sea mayor
Hematocrito (véase nota al pie de esta tabla)	50 – 70%	Mínimo cuatro unidades al mes
Hemoglobina	≥40 g por unidad	
Leucocitos residuales	<1.0 x 10 ⁶ por unidad (en el 90% de las unidades probadas)	
Hemólisis al término de la vigencia (véase Nota al pie de la tabla 14)	<0.8% de la masa eritrocítica	
Control bacteriológico al final del procesamiento	Sin desarrollo	1% o cuatro unidades al mes, lo que sea mayor

Nota: La viabilidad de los eritrocitos puede afectarse cuando el hematocrito de la unidad excede al 80%.

Imagen 94. Control de calidad para concentrados eritrocitarios leucodepletados en solución aditiva. NOM-253-SSA1-2012.

Los **concentrados eritrocitarios lavados**, se realizarán mediante lavados sucesivos con solución salina isotónica al 0.9% que tenga una temperatura entre +2°C y +6°C y la centrifugación se hará en centrifugas con temperatura controlable. Al finalizar el lavado, los eritrocitos se suspenderán en solución salina o en una mezcla de solución salina y solución aditiva. La transfusión de estos componentes sanguíneos, deberá ser tan pronto como sea posible después de su preparación, sin que el intervalo exceda de 24 horas y se conserven entre +2°C y 6°C.

Requisitos que deben reunir el 100% de las unidades de concentrados de eritrocitos lavados con solución salina isotónica al 0.9%

Parámetro a verificar	Especificación	Cantidad de unidades y frecuencia de verificación
Volumen	Variable según el método empleado	Todas las unidades
Observación del sobrenadante	Incoloro después del último lavado	
Hematocrito final	65% – 75%	
Hemoglobina	≥40 g por unidad	
Hemólisis al término de la vigencia (véase Nota al pie de la tabla 14)	<0.8% de la masa eritrocítica	
Proteínas en el sobrenadante final (véase Nota al pie de esta tabla)	<0.5 g por unidad	
Control bacteriológico al final del procesamiento.	Sin desarrollo	

Nota: La cantidad indicada de proteínas en el sobrenadante asegura que el contenido de inmunoglobulina tipo A sea menor de 0.2 mg por unidad.

Imagen 95. Requisitos que deben reunir el 100% de las unidades de concentrados de eritrocitos lavados con solución salina isotónica al 0.9%. NOM-253-SSA1-2012.

Las unidades de **concentrados de eritrocitos congelados**, se deben de congelar no excediendo los 7 días que siguen a su extracción, excepto cuando se trate de concentrados de eritrocitos rejuvenecidos. A los concentrados de eritrocitos se les deberá agregar glicerol al 40% o al 20% como crioprotector y mantenerse constantemente a las temperaturas dependiendo de la concentración del glicerol: con alta concentración de glicerol, en congeladores eléctricos, entre -60°C y -80°C o, con baja concentración de glicerol, en vapor de nitrógeno líquido, entre -140°C y -150°C . Estos concentrados tendrán una vigencia máxima de 10 años, siempre y cuando se garantice el mantenimiento constante de las temperaturas. Los requisitos de calidad que deberán tener los concentrados de eritrocitos congelados, verificados con el número de unidades y la frecuencia que se indica en la imagen siguiente (NOM-253-SSA1-2012):

Requisitos que deben reunir el 100% de las unidades de concentrados de eritrocitos descongelados y reconstituidos o resuspendidos probadas

Parámetro a verificar	Especificación	Cantidad de unidades y frecuencia de verificación
Volumen	Según el método	Todas las unidades procesadas
Observación del sobrenadante	Incoloro después del último lavado	
Hemólisis al término de la vigencia (véase Nota al pie de la tabla 14)	<0.2 g por unidad	
Hematocrito	65% – 75%	
Hemoglobina	>36 g por unidad	
Osmolaridad de la solución final	<340 mOsm/L	1% o cuatro unidades al mes, lo que sea mayor o a cada una si fuesen menos unidades
Leucocitos	<0.1 x 10 ⁹ células por unidad (en el 90% de la unidades probadas)	
Control bacteriológico al final del procesamiento.	Sin desarrollo	Todas las unidades procesadas

Imagen 96. Requisitos que deben reunir el 100% de las unidades de concentrados de eritrocitos descongelados y reconstituidos o resuspendidos probadas. NOM-253-SSA1-2012.

Los **concentrados eritrocitarios obtenidos por aféresis**, se pueden obtener durante una sesión de aféresis, en donde se podrán recolectar uno o dos concentrados de eritrocitos. Durante o después del procedimiento se podrá añadir una solución aditiva, en el volumen recomendado por el fabricante del equipo de aféresis. Los requisitos de calidad que deberán tener los concentrados de eritrocitos obtenidos por aféresis, verificados con el número de unidades y la frecuencia que se indican, se muestran en la siguiente imagen (NOM-253-SSA2-2012).



Requisitos que deben reunir el 100% de las unidades de concentrados de eritrocitos obtenidos por aféresis probadas

Parámetro a verificar	Especificación	Cantidad de unidades y frecuencia de verificación
Volumen	Según el sistema usado	1% o cuatro unidades al mes, lo que sea mayor
Hematocrito	65% – 75%	Cuatro unidades al mes
Hematocrito, en caso de agregar solución aditiva	50% – 70%	
Cuenta de leucocitos residuales, empleando métodos leucorreductores	$<1 \times 10^6$ por unidad	1% o diez unidades al mes, lo que sea mayor
Hemólisis al término de la vigencia (véase Nota al pie de la tabla 14)	0.8% de la masa eritrocítica	Cuatro unidades al mes
Control bacteriológico al final del procesamiento	Sin desarrollo	1% o cuatro unidades al mes, lo que sea mayor

Imagen 97. Requisitos que deben reunir el 100% de las unidades de concentrados de eritrocitos obtenidos por aféresis probadas. NOM-253-SSA1-2012.

22.3 CONTROL DE CALIDAD DE PLAQUETAS.

Las unidades de **plaquetas obtenidas por aféresis**, pueden reducir los riesgos de aloinmunización leucocitarios humanos y de transmisión viral al disminuir el número de exposiciones alogénicas, así mismo, constituyen un tratamiento efectivo para pacientes previamente aloinmunizados. Se deberá verificar los requisitos de calidad de las unidades de plaquetas obtenidas por aféresis, con la cantidad de unidades y la frecuencia que señala la siguiente imagen (NOM-253-SSA1-2012):

Requisitos que deben reunir el 100% de las unidades de plaquetas obtenidas por aféresis probadas

Parámetro a verificar	Especificación	Cantidad de unidades y frecuencia de verificación
Inspección de la unidad	Ausencia de agregados plaquetarios	Todas las unidades obtenidas en el mes
Volumen (depende del contenido de plaquetas)	> 40 mL con al menos 6.0×10^{10} plaquetas	
Contenido de plaquetas	$>200 \times 10^9$ x unidad (en el 90% de las unidades)	1% o diez unidades al mes lo que sea mayor
Leucocitos residuales en unidades leucorreducidas (véase Nota al pie de esta tabla)	$<1 \times 10^6$ por unidad (en el 90% de las unidades)	
pH al término de su vigencia	6.4 a 7.4	1% o cuatro unidades al mes lo que sea mayor
HLA o HPA (en caso de requerirse)	Tipificación	Cada vez que se requiera.
Control bacteriológico al final del procesamiento	Sin desarrollo	5% o 20 unidades al mes, lo que sea mayor

Nota: Con algunos equipos de aféresis, el contenido de leucocitos residuales puede ser mucho más bajo.

Imagen 98. Requisitos que deben reunir el 100% de las unidades de plaquetas obtenidas por aféresis probadas. NOM-253-SSA1-2012.

Las **plaquetas congeladas** y lavadas, se conservarán entre +20°C y +24°C, en agitación suave. Su uso terapéutico será sin exceder 6 horas, de lo contrario se le deberá dar destino final.

Requisitos que deben reunir el 100% de las unidades o mezclas de plaquetas congeladas y descongeladas

Parámetro a verificar	Especificación	Cantidad de unidades y frecuencia de verificación
Volumen	50 – 200 mL	Todas las unidades o mezclas preparadas en el mes.
Cuenta de plaquetas	$\geq 40\%$ del valor de previo a la congelación	
Leucocitos pre congelación en unidades leucodepletadas	$< 1 \times 10^6$ por unidad, en el 90% de las unidades probadas	
Control bacteriológico al final del procesamiento.	Sin desarrollo	

- Nota:**
- En unidades o mezclas leucodepletadas es admisible una pérdida de plaquetas entre el 10 y 15%
 - Las unidades de plaquetas descongeladas y reconstituidas son pobres en eritrocitos y leucocitos.

Imagen 99. Requisitos que deben reunir el 100% de las unidades o mezclas de plaquetas congeladas y descongeladas. NOM-253-SSA1-2012.

22.4 CONTROL DE CALIDAD DE CONCENTRADO DE GRANULOCITOS.

Estos concentrados se deben únicamente de obtener por aféresis. Su periodo máximo de vigencia es de 24 horas. Los requisitos de calidad que deberán verificar en todos los concentrados de granulocitos se indican en la siguiente imagen (NOM-253-SSA1-2012):

Requisitos que deben reunir el 100% de los concentrados de granulocitos

Parámetro a verificar	Especificación	Cantidad de unidades y frecuencia de verificación
HLA	Tipificación	Cuando se requiera
Volumen	200 a 300 mL	Todas las unidades
Cuenta de granulocitos	$> 1 \times 10^{10}$ por unidad	A cada unidad obtenida
Control bacteriológico al final del procesamiento	Sin desarrollo	Todas las unidades

Imagen 100. Requisitos que deben reunir el 100% de los concentrados de granulocitos. NOM-253-SSA1-2012.

22.5 CONTROL DE CALIDAD DE PLASMA.

La utilidad más importante del plasma es en el procesamiento de unidades, entre otras, preparación de crioprecipitados y reconstitución de componentes sanguíneos celulares. El uso terapéutico es limitado, los plasmas no empleados en transfusión se podrán utilizar para la elaboración



de hemoderivados. Con el fin de prevenir el daño pulmonar agudo asociado a la transfusión, los plasmas recuperados provenientes de donantes con antecedentes de aloinmunización por causas tales como múltiples embarazos o transfusiones previas, no se emplearán con fines transfusionales, sin embargo, podrán reservarse para la elaboración de hemoderivados, o bien, se les dará destino final. Para utilizar los plasmas congelados, frescos o no, deberán descongelarse a temperaturas ambiente entre +30°C y 37°C mediante técnicas o equipos específicos validados para el efecto, en su caso, los factores lábiles de la coagulación. Una vez descongelados deberán transfundirse a la brevedad, o bien, conservarse entre +2°C y 6°C por un lapso que no exceda de 6 horas con el fin de evitar la pérdida de la actividad de los factores lábiles de la coagulación. De no emplearse para la transfusión se les dará destino final. Los requisitos de calidad del plasma fresco y del plasma desprovisto de factores lábiles se indican en la siguiente imagen (NOM-253-SSA1-2012):

Requisitos que deberán reunir el 100% de las unidades de plasma fresco probadas

Parámetro a verificar	Requisitos de calidad (especificación)	Frecuencia del control
Inspección visual	a) Integridad de la bolsa: Sin fugas al comprimir la bolsa en un extractor de plasma, antes y después de su congelamiento, y b) Sin color anormal ni coágulos visibles.	Todas las unidades
Volumen	a) ≥ 200 mL, obtenido por fraccionamiento de sangre fresca, sin haber efectuado leucodepleción ni haber obtenido concentrado de plaquetas; b) ≥ 140 mL obtenido por fraccionamiento de sangre fresca, después de separar plaquetas a partir de la capa leucoplaquetaria o del plasma rico en plaquetas; c) ≥ 450 mL, obtenido por aféresis.	Todas las unidades
Proteínas totales	>50 g/L	Mínimo 10 unidades al mes
Factor VIIIc	- $\geq 70\%$ de la unidad recién extraída (antes de congelar); - En el caso de que el plasma haya sido sometido a un proceso de inactivación, es esperable una pérdida máxima del 15%	Cada tres meses Mínimo diez unidades en el primer mes de almacenamiento
Conteo de células residuales previo al congelamiento	- Eritrocitos: $< 6.0 \times 10^9$ /L - Leucocitos: $< 0.1 \times 10^9$ /L - Plaquetas: $< 50 \times 10^9$ /L	1% de las unidades o cuatro unidades al mes, lo que sea mayor

Imagen 101. Requisitos que deberán de reunir el 100% de las unidades de plasma fresco probadas. NOM-253-SSA1-2012.





En la siguiente imagen se describe el control de calidad **para plasma desprovisto de factores lábiles**.

Requisitos que deberán reunir el 100% de las unidades de plasma desprovisto de factores lábiles probadas

Parámetro a verificar	Requisitos de calidad (especificación)	Frecuencia del control
Inspección visual	<p>a) Integridad de la bolsa: Sin fugas al comprimir la bolsa en un extractor plasmático, antes y después de su congelamiento, y</p> <p>b) Sin color anormal ni coágulos visibles</p>	Todas las unidades
Volumen	El establecido \pm 10%	Todas las unidades
Conteo de células residuales previo al congelamiento	<ul style="list-style-type: none"> - Eritrocitos: $<6.0 \times 10^9$ /L - Leucocitos: $<0.1 \times 10^9$ /L - Plaquetas: $<50 \times 10^9$ /L 	1% de las unidades o cuatro unidades al mes, lo que sea mayor

Imagen 102. Requisitos que deberán reunir el 100% de las unidades de plasma desprovisto de factores lábiles. NOM-253-SSA1-2012.

22.6 CONTROL DE CALIDAD DE CRIOPRECIPITADOS.

El crioprecipitado se obtiene por procesamiento del plasma fresco congelado. Adecuadamente procesado y conservado, contiene el factor VIII de la coagulación, factor de von Willebrand, fibrinógeno, factor XIII y fibronectina. Para poder utilizar los crioprecipitados deberán congelarse a temperaturas entre $+30^{\circ}\text{C}$ y 37°C mediante técnicas o equipos específicos validados para el efecto, que no afecten los factores lábiles de la coagulación. De emplearse baño María deberá evitarse que se contamine con el puerto de entrada de la bolsa contenedora. Una vez descongelados deberá favorecerse la disolución del producto mediante manipulación suave y transfundirse a la brevedad, o bien, conservarse entre $+2^{\circ}\text{C}$ y 6°C por un lapso que no exceda 6 horas con el fin de evitar la pérdida de sus propiedades procoagulantes, de no transfundirse en ese lapso se le dará destino final. Los requisitos de calidad de los crioprecipitados se indican en la siguiente imagen (NOM-253-SSA1-2012):

Requisitos que deben reunir el 100% de las unidades y mezclas de crioprecipitado probadas

Parámetro a verificar	Requisitos de calidad (especificación)	Frecuencia del control
Inspección visual	<p>a) Integridad de la bolsa. Sin fugas al comprimir la bolsa en un extractor plasmático antes y después de su congelamiento, y</p> <p>b) Sin color anormal ni coágulos visibles</p>	Cada día de procesamiento, a todas las unidades
Volumen	<p>a) ≤ 10 mL por unidad, y</p> <p>b) 30 a 40 mL en caso de mezcla de crioprecipitados</p>	Cada día de procesamiento, a todas las unidades o mezclas

Factor VIIIc	≥ 70 UI por unidad	Cada dos meses: a) Mezcla de seis unidades de distintos grupos sanguíneos al primer mes de almacenamiento, y b) Mezcla de seis unidades de distintos grupos sanguíneos del último mes de vigencia.
Fibrinógeno	≥ 140 mg por unidad	1% de las unidades o cuatro unidades al mes, lo que sea mayor.
Factor von Willebrand	> 100 IU por unidad	Cada dos meses: a) Mezcla de seis unidades de distintos grupos sanguíneos durante el primer mes de almacenamiento, y b) Mezcla de seis unidades de distintos grupos sanguíneos durante el último mes de vigencia.

Imagen 103. Requisitos que deben reunir el 100% de las unidades y mezclas de crioprecipitados probadas. NOM-253-SSA1-2012.

22.7 INACTIVACION EN COMPONENTES SANGUINEOS.

A criterio del responsable sanitario del banco de sangre, los componentes sanguíneos que vayan a destinarse para uso transfusional, podrán someterse a técnicas *in-vitro* validadas y estandarizadas que impidan la proliferación de agentes potencialmente infectantes o de células inmunocompetentes, mediante métodos de inactivación fotodinámica, fotoquímica, solvente detergente u otros que permitan el mantenimiento de propiedades terapéuticas, en su caso, de su viabilidad y que no provoquen toxicidad en el receptor, estos métodos no sustituyen la irradiación de componentes sanguíneos para la prevención de la enfermedad injerto contra huésped (u hospedero). Las técnicas de inactivación viral para el plasma fresco congelado, podrán llevarse a cabo en el banco de sangre o por manufactura en la industria farmacéutica (NOM-253-SSA1-2012).

RESULTADOS.

Actividad: Con base a lo presentado en esta práctica conteste las siguientes preguntas:

1. Un paciente de 21 años es recibido en el servicio de urgencias de un hospital, presenta una hemorragia severa. ¿Cuál sería el componente sanguíneo que emplearía para el paciente?
2. Mencione dos diferencias entre el control de calidad de concentrados eritrocitarios leucorreducidos y concentrados eritrocitarios lavados, con base a la cantidad de unidades y frecuencia de verificación.



3. Suponga que usted está a cargo del área de pruebas de compatibilidad, son las 14:00 horas y llega un médico pidiendo un concentrado eritrocitario lavado para transfusión de un paciente masculino de 30 años de edad. Usted realiza las pruebas de compatibilidad entre la bolsa a transfundir y el receptor, salen compatibles. El médico tratante llega al día siguiente por el concentrado eritrocitario lavado a las 20:00 horas. ¿Le daría ese concentrado eritrocitario? Explique los motivos.

4. Suponga que usted es el responsable del área de fraccionamiento sanguíneo. Cuenta en su área con un refrigerador que congela a una temperatura de $74^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. La necesidad de su banco de sangre es congelar concentrados eritrocitarios, por normatividad, ¿Qué crioprotector usaría y qué tipo de concentración usaría? Explique.

5. Suponga que está realizando el control de calidad de aféresis plaquetaria, usted tiene en existencia 10 concentrados. Al hacer el control de calidad se percata que cuenta con 4 bolsas que su conteo total es de 160×10^9 plaquetas. ¿Aceptaría ese control de calidad y por ende esas plaquetas? Explique los motivos.

6. Suponga que usted está a cargo del área de pruebas de compatibilidad, son las 10:00 horas y llega un médico pidiendo un concentrado plaquetario de grupo sanguíneo B factor Rh positivo para trasplante de hígado de un paciente femenino de 20 años de edad. Usted cuenta en existencia con 8 concentrados plaquetarios de los cuales, únicamente 1 es del grupo sanguíneo solicitado, pero lo tiene congelado. La cirugía está programada para las 20:00 horas de ese mismo día. ¿Usaría ese concentrado plaquetario? Explique los motivos.





7. Al realizar su control de calidad de aféresis granulocitaria, se da cuenta que tiene en existencia con una bolsa con 45 mL. ¿Aceptaría ese control de calidad y por ende ese concentrado? Explique los motivos.

8. Suponga que usted está laborando en el área de fraccionamiento, de pronto escucha una discusión entre el químico responsable del área y un técnico que ahí también labora. El químico va a dar de baja una unidad de plasma fresco al momento de fraccionar una bolsa de sangre total de una donadora. La donadora tiene una edad de 44 años y ya ha tenido 6 hijos. El técnico no está de acuerdo con la decisión de químico pues, a su parecer, no tiene ningún motivo para dar de baja la unidad de plasma fresco. ¿Usted qué opinión tendría? ¿Está de acuerdo con el químico o con el técnico? Explique los motivos.

9. Usted está realizando el control de calidad de plasmas frescos, de repente se percata que una bolsa presenta un coagulo visible. ¿Aceptaría ese control de calidad y por ende la bolsa de plasma fresco?

10. Como rutina del control de calidad de crioprecipitados, manda al laboratorio central de su hospital, específicamente al área de coagulación, la cuantificación de factor de von Willebrand, fibrinógeno y factor VIII. Para poder hacer la mezcla de crioprecipitados, ¿Cuántas bolsas seleccionaría para cada uno de los tres parámetros a validez?, ¿Seleccionaría todas las bolsas del mismo grupo sanguíneo? Y ¿Con qué frecuencia lo haría?





BIBLIOGRAFÍA

- Aronson C, et al., (2012). Manual técnico de la Asociación Americana de Bancos de Sangre. Buenos aires, Argentina: Asociación argentina de hemoterapia e Inmunohematología.
- López A. (2007). Fundamentos de banco de sangre y medicina transfusional. México: Agrupación Mexicana para el Estudio de la Hematología, A.C.
- NOM-253-SSA1-2012. Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos.





Práctica No. 23

Control de calidad en equipos automatizados.**INTRODUCCIÓN.**

Para organizar un adecuado control de equipos de inspección, medición y prueba, debe tomarse en cuenta los siguientes lineamientos:

1. Mantener un inventario actualizado de los equipos e instrumentos de medición con los que se cuenta.
2. Contar con un expediente único de cada equipo, donde se archive el historial de los reportes de calibración y mantenimiento, a fin de que se tenga presente el estado del equipo.
3. Asignar una clave a cada equipo para su fácil identificación en reportes y para su expediente. Esta clave debe colocarse en algún lugar visible del equipo.
4. El equipo debe protegerse contra daño y deterioro durante la manipulación, el mantenimiento y el almacenamiento, para lo cual, es importante contar con su manual de operación, el cual debe de situarse junto al equipo. En algunos instrumentos (por ejemplo, equipos automatizados de serología o microbiología) es útil colocar un flujograma que indique paso a paso la operación del mismo, desde su encendido, su funcionamiento y hasta su apagado (Infante L, 2003).

El programa de mantenimiento preventivo **y/o correctivo** de los equipos e instrumentos es tan importante como respetar las condiciones de trabajo, con la finalidad de garantizar su adecuado funcionamiento, disminuir al máximo su mantenimiento y alargar su vida media útil. Ambos mantenimientos deben de ser calendarizados de acuerdo a la frecuencia de uso y a los cuidados básicos descritos en el manual de operación de cada equipo. El programa de calibración se debe realizar a todos los equipos que requieran servicio técnico de medición y calibración, para determinar el grado de cumplimiento con las normas oficiales mexicanas. La periodicidad de la calibración debe ser tal que se asegure que la incertidumbre (dispersión de valores) declarada del equipo no se degrada en un tiempo determinado. Para bancos de sangre que cuentan con personal suficiente y tienen más de 10 equipos de medición y prueba para calibración es factible llevar a cabo un programa de verificación interna, para el cual se debe contar con personal técnico calificado y capacitado (Infante L, 2003).

El control de calidad se puede dividir en dos grandes grupos, el **control de calidad interno y el externo**. El propósito del control interno es evaluar el desempeño del sistema de medición para liberar los resultados de las muestras de pacientes procesadas bajo las mismas condiciones de trabajo. Permiten detectar desvíos y variabilidad del sistema analítico, para tomar acciones preventivas y apoyar en la mejora del desempeño. Por otro lado, el control de calidad externo, permite evaluar el desempeño del laboratorio bajo condiciones externas (Gómez R, et al., 2015).

Para el control de calidad interno, los equipos automatizados utilizan "**controles**" que éstos han de ser proporcionados por distintas casas comerciales. Los controles se pueden dividir como controles de primera opinión y de tercera opinión. Los controles de primera opinión son aquellos que diseña el fabricante del equipo. Funcionan para controlar los reactivos en sus propios equipos.



El término “tercera opinión” se usa para describir un producto de control de calidad que ayuda a proporcionar una valoración independiente del equipo o método y no está optimizado para ningún instrumento o sistema de reactivos específicos. Los controles de tercera opinión son fabricados independientemente de los reactivos y calibradores del sistema. Dichos controles generalmente están fabricados con base en una matriz humana, lo cual nos brinda un producto similar a una muestra de paciente (BIO RAD LABORATORIES).



Imagen 104. Diferentes tipos de controles para equipos automatizados. Extraída de: <https://bit.ly/2ITil7P>.

OBJETIVO.

Que el alumno evalúe la importancia del control de calidad de equipos automatizados, mediante el fundamento de los equipos y de los controles que comúnmente se utilizan en el banco de sangre, para asegurar que el trabajo realizado es correcto.

CONTENIDO.

23.1 EQUIPO AUTOMATIZADO PARA LA CITOMETRÍA HEMÁTICA.

Fundamento.

En la actualidad se cuentan con dos métodos para la detección de células sanguíneas el más utilizado es el método de **impedancia**. Las células de una muestra de sangre total diluida en una solución electrolítica se hacen pasar, una detrás de otra, a través de una abertura de determinado diámetro, por la que circula una corriente eléctrica de cierta intensidad inducida por dos electrodos dispuestos a ambos lados de la abertura u orificio. Al pasar cada célula a través del orificio causa un cambio en la resistencia eléctrica que genera un pulso de voltaje cuya abertura o amplitud será proporcional al tamaño o volumen de la célula en cuestión. El número de pulsos eléctricos generados se relaciona con la cantidad de células que atraviesan la abertura. En la actualidad, este principio se aplica como método de referencia para el recuento células hemático y la medición de los volúmenes (tamaño) de cada población celular. Es utilizado por la mayoría de los fabricantes de contadores hematológicos debido a su marcada reproducibilidad, rapidez y disminución del error estadístico (Hernández L, 2013).

Los componentes básicos de un contador hematológico son: **diluidor** (sistema que reduce la concentración de las células sanguíneas y las suspende en soluciones conductoras isotónicas para adecuarla a las capacidades de medida del dispositivo), **aspirador** (sistema que toma la muestra diluida y la conduce hacia el dispositivo de medida), **cámara de recuento** (constituye la parte central o zona sensible del equipo, donde ocurren los fenómenos ópticos, eléctricos o ambos, medidos posteriormente), **transductor o detector** (son los dispositivos que general linealmente pulsos eléctricos cuando las células pasan la zona sensible, óptica o eléctrica, del equipo), **discriminador** (discrimina los pulsos eléctricos generados por los transductores para su posterior procesamiento), **convertidor analógico-digital** (convierte las señales eléctricas en digitales), **ordenador** (procesa las señales digitales y las convierte en datos que serán mostrados en pantalla y que pueden ser impresos) (Hernández L, 2013). En la siguiente imagen, se muestra los componentes de un equipo automatizado.

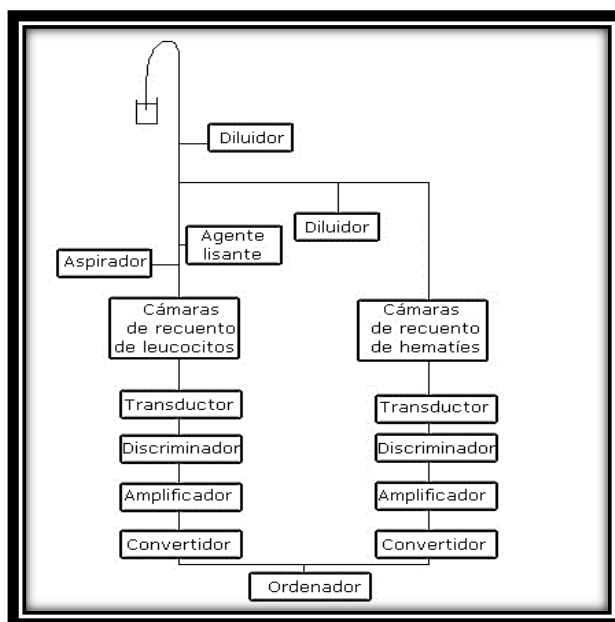


Imagen 105. Componentes principales de un contador hematológico. (Hernández L, 2013).

Equipo automatizado.

Actualmente existen diferentes tipos de equipos automatizados para la cuantificación de células sanguíneas. El uso de estos equipos dependerá del banco de sangre; si es un banco pequeño, donde se tengan pocos donadores al día, pueden emplearse equipos pequeños o si son muchos donadores, se puede optar por un equipo más rápido y con mayor capacidad para muestras.



Imagen 106. Equipo automatizado ABX Pentra XL: extraída de: <https://bit.ly/2shBaQi>.

23.1.1 CONTROL DE CALIDAD.

Control de calidad interno.

El control de calidad de equipos automatizados para la detección de células sanguíneas, ocupa dos clases de controles: de primera opinión y de tercera opinión. Cada uno de los controles tiene tres niveles que permiten supervisar el funcionamiento del equipo; control bajo, control normal y control alto. En la siguiente imagen se observan, el control normal, control bajo y control alto que proporciona BIO-RAD.



Imagen 107. Controles de tercera opinión. De abajo hacia arriba; control normal, control bajo y control alto. BIO-RAD.

Estos productos son una suspensión de eritrocitos humanos estabilizados lisables, componentes plaquetarios artificiales, leucocitos artificiales y constituyentes de origen animal en un medio que contiene estabilizadores y conservantes. Este producto deberá de estar almacenado en refrigeradores a una temperatura entre 2°-8°C. Una vez abierto su estabilidad es por 21 días (BIO-RAD).

Estos productos, aunque han sido estudiados y resultaron ser negativos para VIH-1, VHI-2 y VHB y VHC, deben de ser tratados como muestras potencialmente patógenas, pues puede ser que los donadores tengan algún tipo de periodo ventana o que contengan otros patógenos no estudiados.

Técnica:

- I. Para poder utilizar estos controles, se deben de sacar del refrigerador y dejar atemperar de 15-20 minutos a temperatura ambiente.
- II. Homogeneizar los tubos, invirtiéndolos de forma vertical entre 8 y 10 veces cada uno.
- III. Tomar un tubo en posición vertical entre las palmas de la mano.
- IV. Girar el tubo hacia atrás y hacia adelante, durante 20 y 30 segundos.
- V. Hacer lo mismo para todos los controles.
- VI. Introducir al equipo de forma manual.
- VII. Una vez que se ingresen al equipo, cada uno de los controles arrojará un valor para cada uno de los parámetros que analiza el equipo (glóbulos rojos, glóbulos blancos, plaquetas, VCM, HCM, CHCM, cuenta diferencial, etc.) Se deben de verificar cada uno de estos valores de los tres niveles de control, con forme a la tabla que viene en el inserto de cada uno. El valor que arroje el equipo, no debe de alejarse de la media, más de tres desviaciones estándar.
- VIII. Hacer una gráfica de **Levey-Jennings** con los valores obtenidos, con la finalidad de verificar que el control de calidad este correcto.

Control de calidad externo.

Para el control de calidad externo, también se utilizan este tipo de viales, aunque son proporcionados por una casa comercial reconocida como PACAL, entre otros. Se puede realizar semestralmente o mensualmente. Los resultados son enviados para su posterior verificación.

24.2 EQUIPO AUTOMATIZADO PARA TIPIFICACIÓN DE GRUPOS SANGUINEOS.

Fundamento.

Los equipos automatizados para la tipificación de grupo sanguíneo del sistema ABO ocupan una técnica que está basada en gel descrita por Y. Lapierre, que detecta las reacciones de aglutinación de hematíes. La aglutinación ocurre cuando los antígenos de los eritrocitos entran en contacto con los correspondientes anticuerpos, presentes en el reactivo. La tarjeta DG gel es un soporte de plástico compuesta por 8 microtubos. Cada microtubo está compuesta de una columna y una cámara de dispensación/incubador. Cada columna contiene microesferas de dextranos polimerizados en medio tamponado que actúan como filtro. Los dextranos se encuentran mezclados con un reactivo que contiene anticuerpos específicos o un tampón. Los microtubos que contienen anticuerpos específicos incorporados a la solución de gel actúan como medio de reacción y los hematíes aglutinan en contacto con los anticuerpos. Los microtubos sin anticuerpos se utilizan en técnicas en las que los anticuerpos reaccionan directamente con los hematíes en la cámara de incubación y para controles. Durante la centrifugación, los aglutinados de hematíes son atrapados según su tamaño, en la superficie o a lo largo de la columna de gel. Los hematíes no aglutinados descienden hasta el fondo del microtubos (Diagnostic Grifols, S.A.). en la siguiente imagen se observa la composición de una tarjeta para la tipificación del grupo sanguíneo sistema ABO.

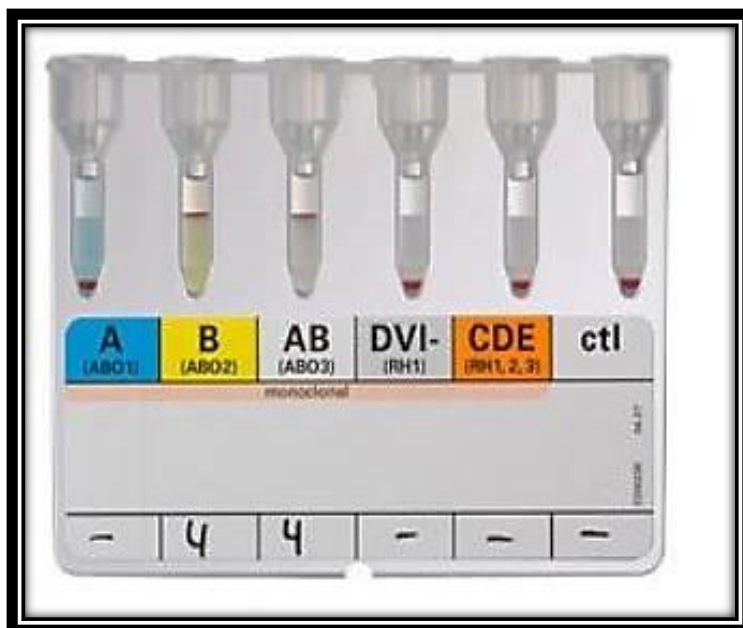


Imagen 108. Tarjeta de técnica en gel para la tipificación del grupo sanguíneo sistema ABO. Esta tarjeta está compuesta por 6 microtubos, dentro de los cuales tiene los anticuerpos específicos para que se lleve a cabo la reacción de aglutinación y así conocer el grupo sanguíneo. (Golffed J, 2014).

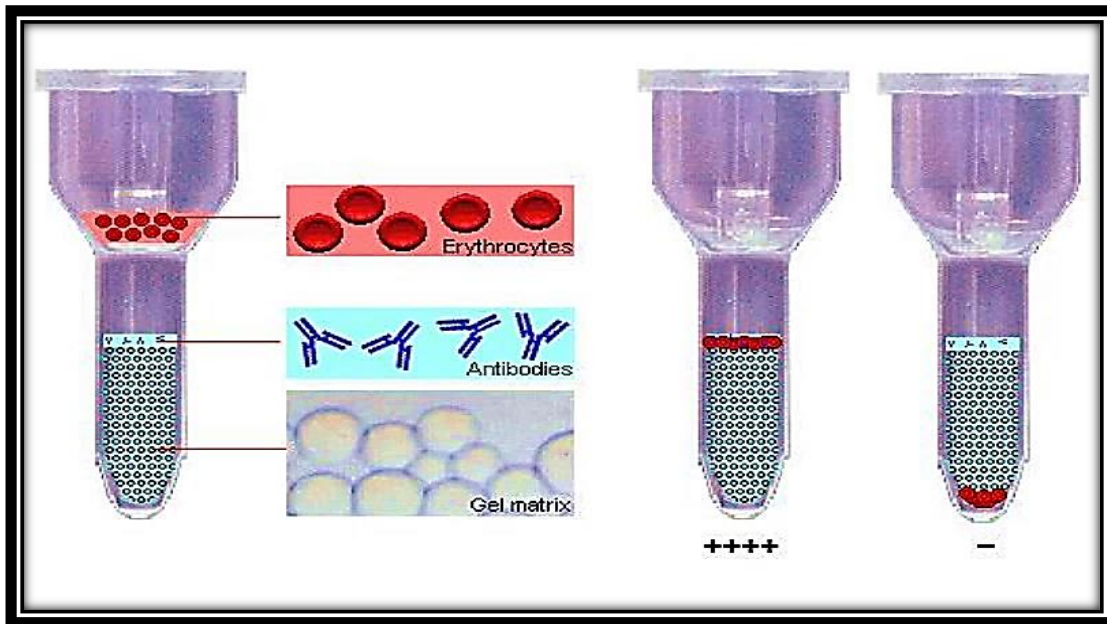


Imagen 109. Composición de los microtubos DG Gel ABO/Rh. En la parte superior del microtubo se depositan los eritrocitos, en la parte media se encuentran los anticuerpos específicos y la parte inferior son las microesferas. En un resultado positivo a la aglutinación, se observan los hematíes aglutinados sobre la columna. Un resultado negativo a la aglutinación, se observan los hematíes en el fondo de la columna. (Golfed J, 2014).

Equipo automatizado.

El empleo de cada equipo dependerá de las necesidades del banco de sangre.



Imagen 110. WADIANA Compact. Extraída de: <https://bit.ly/2KXwerw>.

23.2.1 CONTROL DE CALIDAD.

Control de calidad interno.

Durante cada corrida se deben de utilizar controles tanto positivo como negativo, utilizando glóbulos rojos encontrados positivos y negativos para el antígeno estudiado.

Control de calidad externo.

Para el control de calidad externo, también se utilizan este tipo de viales, aunque son proporcionados por una casa comercial reconocida como PACAL, entre otros. Se puede realizar semestralmente o mensualmente. Los resultados son enviados para su posterior verificación.

23.3 EQUIPO AUTOMATIZADO EN SEROLOGIA.

Fundamento.

Dentro de las pruebas de tamizaje, la técnica más implementada en el banco de sangre es la **quimioluminiscencia**. El ensayo es un inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas (CMIA) para la detección cualitativa de anticuerpos/antígenos (que dependerá de la prueba que se realice) frente a los diferentes patógenos que pueden causar enfermedades que se pueden transmitir por transfusión. Los inmunoanálisis quimiolumiscentes son una variación del principio de los enzimoimmunoanálisis (EIA). A principios de los años 70 se descubrieron por primera vez los enzimoimmunoanálisis de fase sólida, los cuales usan antígenos o anticuerpos recubiertos en una superficie para unirse a los analitos complementarios. El analito unido se detecta a través de una serie de reacciones antígeno-anticuerpo. Los conjugados unidos marcados con acridina se utilizan en la reacción final para genera una señal quimiolumiscentes. La medición de la señal quimioluminiscente se da por unidades relativas de luz (URL) (Abbott, U.S.). En la siguiente imagen se observa la reacción quimioluminiscente de micropartículas.

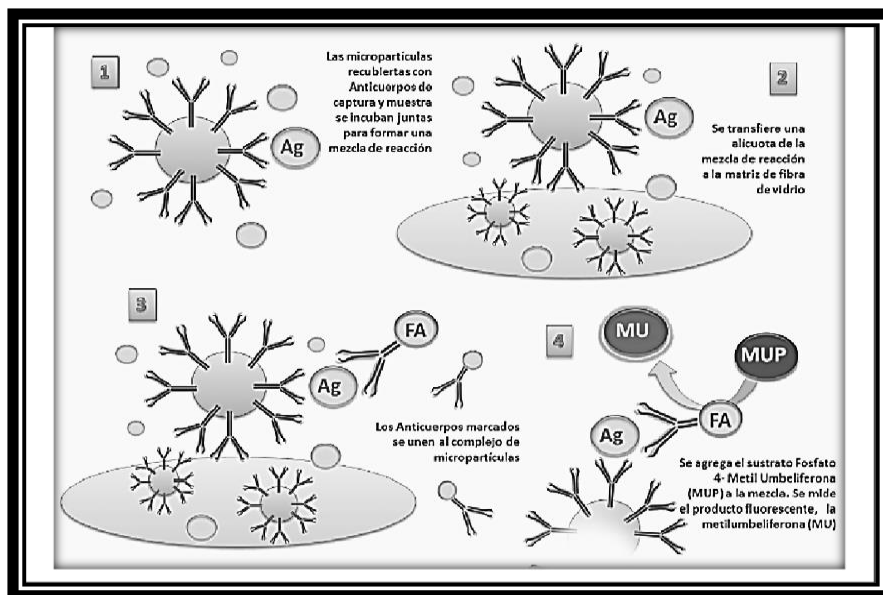


Imagen 111. Enzimoimmunoensayo, MEIA. 1) Las micropartículas recubiertas con anticuerpos (pueden ser antígenos) de captura y la muestra que contiene en este caso en antígeno (pueden ser anticuerpos) se incuban juntas para formar una mezcla de reacción; 2) se transfiere una alícuota de la mezcla de reacción a la matriz de fibra de vidrio (cubeta de reacción); 3) los anti-anticuerpos

marcados se unen al complejo de micropartículas; 4) se agrega el sustrato a la mezcla. Se mide el producto fluorescente en unidades relativas de luz. Extraída de: <https://bit.ly/2J7kLs7>.

Equipo automatizado.

La casa comercial Abbott U.S., desarrollo un equipo que denomino **ARCHITECT**, que es el más utilizado en el banco de sangre por su gran sensibilidad y especificidad. Dependiendo de las necesidades será muy grande para realizar muchas pruebas o puede ser más compacto en caso de bancos de sangre pequeños. En la siguiente imagen se muestra el equipo.



Imagen 112. Equipo utilizado en serología. Architect i1000SR. (Abbott).

24.3.1 CONTROL DE CALIDAD.

Control de calidad interno.

El control de calidad de equipos automatizados para la detección de patógenos que pueden ser transmitidos por transfusión, ocupa dos clases de controles: de primera opinión y de tercera opinión. Cada uno de los controles de primera opinión, tiene dos niveles que permiten supervisar el funcionamiento del equipo; **control negativo y control positivo**. Es así, que para cada uno de los 6 marcadores (anti-VHl-1; anti-Trypanosoma cruzi; anti-Treponema pallidum; anti-VHC; anti-HBcII y anti-HBsAg) hay un control positivo y un negativo. En el caso del control de tercera opinión es una mezcla de los marcadores, pero solo con dos niveles: negativo y positivo.



Imagen 113. Controles de cada uno de los marcadores infecciosos para el equipo automatizado utilizado en serología. Banco de sangre del Hospital Infantil de México. Federico Gómez.

23.4 EQUIPOS UTILIZADOS PARA EL ÁREA DE FRACCIONAMIENTO.

Fundamento.

Recientemente se han introducido sistemas que brindan extrema calidad y máxima seguridad en el banco de sangre moderno, que permiten obtener productos de máxima calidad y seguridad total: los primeros, son los extractores semiautomatizados con funcionamiento neumático y un par de sensores ópticos, los segundos, son los extractores automatizados con funcionamiento eléctrico y con quince pares de sensores ópticos, lo cual permite tener mayores niveles de detección en el momento de la separación. Ambos sistemas reducen la variabilidad de los procesos de obtención, mejorando el manejo y control de los mismos. La obtención de los componentes en los dos sistemas se realiza de manera simultánea, eliminando toda posibilidad de contaminación de los componentes.

Equipo automatizado.

El equipo automatizado permite la separación de la sangre centrifugada en componentes conforme a las necesidades del banco de sangre. En la siguiente imagen se observa en equipo empleado para la separación de los componentes sanguíneos.



Imagen 114. Fraccionador semiautomatizado T-ACE II+. Extraído de: <https://bit.ly/2IOiYsJ>.

23.4.1 CONTROL DE CALIDAD.

El control de calidad de este equipo es mínimo, aunque debe de ser muy minucioso para asegurar que los componentes sanguíneos están correctos. Se debe de hacer una limpieza del equipo diario, como mantenimiento preventivo y cada determinado tiempo, se le hace un mantenimiento correctivo, éste se le da por los ingenieros.

También se debe de hacer una calibración diaria, o cuando el equipo marque que la necesita. Para realizar este procedimiento se utiliza una pesa que ya tiene una masa específica. Esta pesa se debe de colocar en la zona del equipo donde van colocadas las bolsas para el fraccionamiento, con la finalidad de que el equipo calcule de manera correcta y precisa, cuánto es que pesan las bolsas una vez que son fraccionadas a partir de la bolsa de sangre total.



Imagen 115. Calibración del fraccionador de bolsas de sangre total. Se observa en la imagen tres círculos donde se debe de poner la pesa. Hospital Infantil de México Federico Gómez.

23.5 EQUIPO AUTOMATIZADO PARA PRUEBAS PRE-TRANSFUSIONALES.

Fundamento.

El fundamento de estos equipos es la técnica de aglutinación en gel, la misma utilizada para la tipificación de grupos sanguíneos.

Equipo.

El equipo es totalmente automático de alta capacidad de proceso para pruebas de compatibilidad pre-transfusional, utiliza tarjetas de 8 columnas de gel (ERYTRA). En la siguiente imagen se puede observar el equipo comúnmente utilizado para estas pruebas en el banco de sangre.



Imagen 116. Equipo de automatización total en Inmunohematología, ERYTRA. Extraída de: <https://bit.ly/2sbfiag>.

23.5.1 CONTROL DE CALIDAD.

Control de calidad interno.

Dentro del control de calidad para este equipo automatizado, se tienen unos viales con células, diseñadas por el fabricante, que tienen antígenos conocidos para la determinación del grupo sanguíneo ABO y del Factores Rh. De igual manera existe otro vial, cono células que tienen antígenos específicos para el rastreo e identificación de anticuerpos irregulares. También otro vial, donde las células reaccionan positivamente para la prueba de Coombs directa e indirecta.

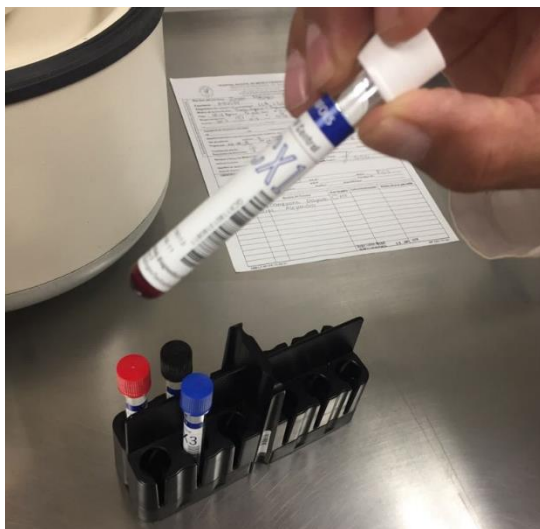


Imagen 117. Controles de calidad interno para el equipo automatizado ERYTRA. Banco de Sangre del Hospital Infantil de México. Federico Gómez.

Control de calidad externo.

El control de calidad externo, consiste en poner a prueba el equipo mediante una serie de sueros que contienen diferentes anticuerpos (mezcla) y que se deben de identificar en un lapso de tiempo. Los resultados son enviados vía electrónica a la casa comercial para la verificación del resultado.

BIBLIOGRAFIA.

- BIO RAD LABORATORIES. Control de calidad. Extraído el día 20 de mayo de 2018 de: <https://bit.ly/2krPhyZ>.
- DiagnosticGrifols. DB Gel ABO/Rh (2D). Extraída el día 20 de mayo de 2018 de: <https://bit.ly/2INQCe2>.
- ERYTRA. LaboratorioDAI. Extraída el día 20 de mayo de: <https://bit.ly/2sbfiag>.
- Infante L. (2003). El control de calidad de equipos como parte del sistema de aseguramiento de calidad. Gaceta medica de México. 139(3).
- Golffed J. (2014). Microtécnica de aglutinación en gel. Fundamentos y técnicas básicas. Montevideo, Uruguay: Servicio Nacional de Sangre.
- Gómez R, et al., (2015). Guía técnica para control de calidad de mediciones cuantitativas en el laboratorio clínico. Chile: Instituto de Salud Pública.



- Hernández L. (2013). Avances y aplicación clínica de la Citometría hemática automatizada. Revista cubana de hematología, inmunología y hemoterapia. 29(1).
- TERUMOBCT. T-ACE II+. Extraída el 20 de mayo de 2018 de: <https://bit.ly/2LzDX09>.
- Westgard J, Migliarino G. (2014). Sistemas de gestión de la calidad para el laboratorio clínico. Wisconsin, E.U.A: QC Westgard Inc.



5. CONCLUSIONES

Con base en la observación directa de las deficiencias en el proceso enseñanza-aprendizaje, que tenía la opción técnica de banco de sangre del Colegio de Ciencias y Humanidades plantel Azcapotzalco, se llevó a cabo la investigación meticulosa de información y se logró la creación del manual de prácticas para dicha opción técnica, con base en los avances tecnológicos más actualizados.

Al realizar la estancia en el banco de sangre del Hospital Infantil de México Federico Gómez, además de aplicar los conocimientos que adquirí en la universidad, pude descubrir nuevas técnicas que desconocía completamente. Por ejemplo, en el área de toma de muestra, mejoré mi técnica de venopunción. Dentro del área de sangrado, comprendí la importancia de realizar una correcta asepsia, pues de ello depende que la recolección de sangre sea la adecuada y no esté contaminada por microorganismos comensales que colonizan nuestra piel. Cuando estuve en el área de estudio del donador pude utilizar equipos automatizados para la hemotipificación de grupos sanguíneos, usando tarjetas de gel, completamente diferente a la hemotipificación en tubo, pero ambas con el mismo fundamento. En el área de fraccionamiento, realicé la obtención de hemocomponentes de buena calidad, descartando aquellas que presentaban un aspecto lipémico o icterico; lo cual es fundamental para que la salud de los receptores no se vea afectada. De igual manera, conocí la importancia de realizar el rastreo e identificación de anticuerpos irregulares, pues cuando una persona llega a donar plasma con anticuerpos irregulares, causa daño al receptor. En el área de serología, manejé el equipo para el tamizaje de todos los donadores, para la detección del Virus de la Inmunodeficiencia Humana (HIV), Virus de la Hepatitis B (HBV), Virus de la hepatitis C (HCV), *Trypanosoma cruzi* (Chagas), y *Treponema pallidum* (Sífilis). Este equipo realizaba la detección tanto de anticuerpos como antígenos, mediante la técnica inmunológica de quimioluminiscencia de micropartículas, en donde puse a prueba el criterio químico para decidir si una muestra es no reactiva, dudosa (zona gris) o reactiva. En pruebas de compatibilidad se debe emplear el conocimiento previo de las áreas anteriores, como por ejemplo el rastreo e identificación de anticuerpos irregulares, la realización de grupo sanguíneo en tubo y también conocimiento de la universidad para las pruebas cruzadas tanto mayor como menos, esto con la finalidad de que los hemocomponentes que se pretenden transfundir a los receptores no causen ningún daño y su salud mejore.

También al estar en contacto con los donadores, pude saber que aún existe en México los donadores remunerados, pues como es un Hospital donde va mucha gente de bajos recursos, existen personas que son de diferentes estados de la república y no tienen familiares que puedan ir a donar para su paciente. Por lo que mucha gente paga a personas para que vayan a donar al no tener otra alternativa. La sangre de estas personas, que venden su sangre, es la peor de todas, es una sangre muy peligrosa, pues ya conocen como es el procedimiento de rutina en los bancos de sangre y tienden a mentir en sus respuestas cuando pasan a entrevista médica. Lo que conlleva a un peligro inminente en los receptores.

También durante la elaboración de este manual, pude detectar que había irregularidades en el plan de estudios de la opción técnica de banco de sangre del Colegio de Ciencias y Humanidades. En el módulo II de Inmunohematología aplicada al banco de sangre, se realiza la toma de muestra y la citometría

hemática, temas que pueden ir dentro del módulo I, Servicio de banco de sangre. Pues, estrictamente la inmunohematología, abarca desde la hemotipificación de grupos sanguíneos no desde flebotomía.

Con la implementación de este manual se hace una contribución importante en la capacitación de los técnicos especializados en banco de sangre y se facilita que apliquen las técnicas plasmadas en este manual, no solo cuando realicen sus actividades prácticas, sino también a nivel licenciatura, si es que se deciden estudiar alguna carrera como Q.F.B, Q.B.P. o L.B.D. Además, se hace una perspectiva para que este manual pueda aplicarse a nivel bachillerato, no solo en el Colegio de Ciencias y Humanidades, también en la Escuela Nacional Preparatoria. Para estandarizar el método de enseñanza.

6. REFERENCIAS.

1. Aburto A. (2014). Recomendaciones para la detección e identificación de anticuerpos irregulares eritrocitarios. Chile: Instituto de Salud Pública.
2. Aronson C, et al., (2012). Manual técnico de la Asociación Americana de Bancos de Sangre. Buenos Aires, Argentina: Asociación argentina de hemoterapia e Inmunohematología.
3. Ávila, et al., (2015). Manual de Prácticas de Laboratorio de Análisis Bioquímicos Clínicos Generales. México, Estado de México: Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, U.N.A.M.
4. Bautista J. (2004). Factores que intervienen en la reacción antígeno-anticuerpo. Gaceta medica de México. 140(3).
5. Benítez G, et al., (2017). Estudio de un periodo de ventana documentado por técnica de ácidos nucleicos. Revista Mexicana de Medicina Transfusional. 10(1).
6. Bio-Rad Laboratories. (2009). Uso del control de calidad. México: Bio-Rad.
7. Bobes J. (2006). Técnicas y procedimientos del auxiliar geriátrico. España: Publidisa.
8. Bonilla R. (2005). Pruebas pretransfusionales. Revista médica del instituto del seguro social. 43(1).
9. Borobia C. (2007). Valoración médica y jurídica de la incapacidad laboral. España: La ley. Alemania: Springer.
10. Castillo R, et al., (2015). Manual de Técnicas de Inmunohematología. México: LICON.
11. Cooper W. (2007). Sistemas de control de calidad básico e intermedio para el laboratorio clínico. México: Bio-Rad Laboratories.
12. Crowley L. (2013). Una introducción a la enfermedad humana. México: McGraw-Hill.
13. Dueñas H. (2003). El banco de sangre. Cali, Colombia: Universidad del Valle.
14. D'Artote A. (2011). Selección del donador. Revista Mexicana de Medicina Transfusional. 4(2).
15. García B, et al., (2015). Técnicas de análisis hematológico. Madrid, España: Paraninfo, S. A.

16. García R, et al., (2014). Mejora de las capacidades físicas y primeros auxilios para las personas dependientes. España: Paraninfo.
17. García V. (2004). Introducción a la microbiología. Costa Rica: Editorial Universidad Estatal a Distancia.
18. Gavilán I, et al., (2006). Guía técnica de acción para residuos biológicos. México: facultad de Química, U.N.A.M.
19. Golfed J. (2014). Microtécnica de aglutinación en gel. Fundamentos y técnicas básicas. Montevideo, Uruguay: Servicio Nacional de Sangre.
20. Gómez R, et al., (2015). Guía técnica para control de calidad de mediciones cuantitativas en el laboratorio clínico. Chile: Instituto de Salud Pública.
21. González F. (2009). Geriatria. México: McGraw-Hill Educación.
22. Gutiérrez G, et al., (2016). Prácticas de bioquímica. Facultad de Odontología, U.N.A.M.
23. Hernández, L (2013). Avances y aplicación clínica de la Citometría hemática automatizada. Revista cubana de hematología, inmunología y hemoterapia. 12(1).
24. Hernández M, et al., (2014). Fundamentos de antisepsia, desinfección y esterilización. Revista de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. España: 32(10).
25. Infante L. (2003). El control de calidad de equipos como parte del sistema de aseguramiento de calidad. Gaceta medica de México. 139(3).
26. Ira S. (2014). Fisiología humana. México: McGraw-Hill Educación.
27. Jiménez J, Gómez D. (2012). Hematología. La sangre y sus enfermedades. México: McGraw-Hill Educación.
28. Lomonte B. (2007). Manual de métodos inmunológicos. Universidad de Costa Rica. Acceso libre en: <https://bit.ly/2reibGb>.
29. Luna J. (2005). Anticuerpos irregulares, su importancia en medicina transfusional. Revista médica del Instituto Mexicano del Seguro Social. 43(1).
30. Moran M, Shapiro H. (2004). Fundamentos de termodinámica técnica. Barcelona, España: Reverté.
31. Malagón A, et al., (2007). Guía para el uso clínico de la sangre. México: Secretaria de Salud.
32. McKenzie S. (2005). Hematología clínica. México: Manual moderno.
33. NOM-253-SSA1-2012. Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos.
34. Organización Mundial de la Salud. (2005). Manual de bioseguridad en el laboratorio. Ginebra: Suiza.
35. Pagana K, Pagana T. (2014). Laboratorio clínico, indicaciones e interpretación de resultados. México: El manual moderno.
36. Roca P, et al., (2003). Bioquímica técnicas y métodos. Madrid, España: Medica panamericana.
37. Rodríguez H. (2014). El banco de sangre y la medicina transfusional. México: Médica panamericana.

38. Romero T, et al., (2010). Manual de técnicas y procedimientos en bancos de sangre. México: Prado.
39. Rubio F, et al., (2016). Técnicas de inmunodiagnóstico. Madrid, España: Paraninfo.
40. Ruiz G. (2009). Fundamentos de hematología. México: Médica panamericana.
41. Sánchez P, et al., (2012). Las enfermedades infecciosas y la transfusión de sangre. Revista latinoamericana de patología clínica. 59(4).
42. Sans-Sabrafen J, et al., (2006). Hematología clínica. España: Elsevier.
43. Santos C, et al., (2003). Guía para el manejo de los residuos peligrosos biológico infecciosos en unidades de salud. México: Secretaria de salud.
44. Silva M, García M. (2004). Manual del técnico superior de análisis clínico: España: MAD.
45. Silva M, et al., (2006). Técnico especialista en laboratorio de atención primaria del instituto catan de la salud. España: MAD.
46. Stoppard M. (2000). Nuevo libro del embarazo y nacimiento. Colombia: Norma S.A.
47. TERUMO. Sistema de bolsas de TERUMO. México: TERUMO MEDICAL DE MÉXICO, S.A. DE C.V.
48. Torres O. (2012). Manual técnico. Asociación americana de bancos de sangre.
49. Vite-Casanova M. (2004). El fraccionamiento de la sangre. Gaceta medica de México. 140(3).
50. Westgard J. (2013). Practicas básicas de control de calidad. Madison WI, U.S.A.: QC Westgard Inc.