

RESOLUCIÓN DIRECTORIAL N° 63-2017-GRP-DRSP-HLMP-DG

PAITA, 16 de MAYO del 2017

VISTO:

El Informe N° 002-2016-GRP-SRS"LC" -HLMP-LC, sobre aprobación del **Manual de Procedimientos – MAPRO**, es un documento descriptivo y sistematización normativa, que tiene carácter instructivo e informativo, que contiene en forma detallada las acciones que se siguen en la ejecución de los procedimientos generados para el cumplimiento de las funciones de los órganos y unidades orgánicas de la entidad, del área de Hemoterapia y Banco de Sangre Tipo I del Servicio de Patología Clínica del **HOSPITAL II – 1 NUESTRA SEÑORA DE LAS MERCEDES PAITA**.

CONSIDERANDO:

Que, por Ley N° 26454, se declaró de orden público e interés nacional la obtención, donación, conservación, procesamiento, transfusión y suministro de sangre humana, sus componentes y derivados creando el Programa Nacional de Hemoterapia y Banco de Sangre PRONAHEBAS, órgano técnico de la Dirección General de Salud de las Personas, responsable de establecer las normas y procedimientos que aseguren el aprovisionamiento de sangre y Hemocomponentes de calidad, seguros y oportunos de los Centros de Hemoterapia y Banco de Sangre a nivel nacional.

Que mediante Resolución Ministerial N° 614-2004/MINSA se aprueban las Normas técnicas N° 011 y N°12-MINSA/DGSP-V. 01- Manual de Calidad y Criterios de Calidad del Sistema de Gestión de la Calidad del Programa Nacional de Hemoterapia y Bancos de Sangre (PRONAHEBAS).

Que mediante el Informe N° 002-2016-GRP-SRS"LC" -HLMP-LC, el área de Hemoterapia y Banco de Sangre, remite a la oficina de Dirección y asesoría jurídica el **Manual de Procedimientos - MAPRO**, del área de Hemoterapia y Banco de Sangre Tipo I del Servicio de Patología Clínica del **HOSPITAL II – 1 NUESTRA SEÑORA DE LAS MERCEDES PAITA**.

En cumplimiento a las funciones encomendadas, mediante Resolución Gerencial Regional N° 027-2015/GOBIERNO REGIONAL PIURA-GGR-PIURA, con el visado del Jefe Banco de sangre, Jefe de la Oficina de Asesoría Jurídica y Racionalización de conformidad al **Manual de Procedimientos - MAPRO** del área de Hemoterapia y Banco de Sangre Tipo I del Servicio de Patología Clínica.



SE RESUELVE:

Artículo 1°- APROBAR el Manual Procedimientos - MAPRO del Centro de Hemoterapia y Banco de Sangre Tipo I **HOSPITAL II – 1 NUESTRA SEÑORA DE LAS MERCEDES PAITA**, que en anexo aparte se adjunta y que forma parte de la presente resolución.

Artículo 2° - ENCARGAR que el Jefe del Área de Banco de Sangre del **HOSPITAL II – 1 NUESTRA SEÑORA DE LAS MERCEDES PAITA**, realice la difusión, implementación, supervisión y monitoreo en cumplimiento del citado manual.

Artículo 3°- ENCARGAR a la Oficina de Comunicaciones la publicación de la presente resolución en la página web del Hospital.

Regístrese, comuníquese Y publíquese.



GOBIERNO REGIONAL DE PIURA
SUB REGIÓN DE SALUD
HOSPITAL VERA CRUZ
Dr. Arturo Adanaque Zapata
DIRECTOR EJECUTIVO
MG. SALUD PUBLICA MUJSH

C.c:

- Dirección General.
- Servicio de Patología Clínica.
- Área de Hemoterapia y Banco Sangre.
- Oficina Asesoría Jurídica.
- Oficina de Comunicaciones



PERÚ

Ministerio
de Salud

HOSPITAL DE APOYO II-1 NUESTRA SEÑORA DE LAS MERCEDES PAITA

MANUAL DE PROCEDIMIENTOS

BANCO DE SANGRE



PAITA – PIURA

2017

INDICE

I.	INTRODUCCIÓN	2
II.	OBJETIVOS	3
III.	PROCEDIMIENTOS	
	OBTENCIÓN DE SANGRE VENOSA	4
	OBTENCIÓN DE SANGRE CAPILAR	7
	HEMATOCRITO	9
	LAVADO Y SUSPENSIÓN DE GLÓBULOS ROJOS AL 5 %	13
	TIPIFICACIÓN DE GRUPOS SANGUÍNEOS	15
	VARIANTE D ^U	19
	PRUEBA DE COOMBS DIRECTA	21
	PRUEBA DE COOMBS INDIRECTA	23
	PRUEBAS CRUZADAS	25
IV.	ANEXOS	27
V.	BIBLIOGRAFÍA	30



INTRODUCCION

En el mundo globalizado de hoy, los centros de hemoterapia y banco de sangre, necesitan reglamentar su forma de trabajar de manera que mantengan la uniformidad de los requisitos mínimos y por lo tanto de calidad, para lograr el ideal de seguridad para todos actores que participan en el proceso relacionado a la donación, procesamiento y transfusión de sangre.

El presente manual de procedimientos constituye en una herramienta que sirva de guía para la actualización y adiestramiento, mismo que contenga información sencilla y precisa sobre las diferentes técnicas y procedimientos utilizados en banco de sangre tipo I.



II. OBJETIVOS

- Difundir los procedimientos técnicos para las pruebas que se realizan en los Centros de Hemoterapia y Bancos de Sangre tipo I
- Servir como documento de consulta en los procesos y procedimientos de Inmunohematología.
- Unificar criterios, procedimientos y técnicas que permitan la adecuada estructura, organización y funcionamiento del Banco de Sangre.
- Crear y mantener la garantía de la calidad de la sangre y de sus componentes.
- Garantizar el suministro de sangre, componentes y derivados en forma segura, oportuna y eficiente.



III. PROCEDIMIENTOS

OBTENCIÓN DE SANGRE VENOSA

➤ **Objetivos:**

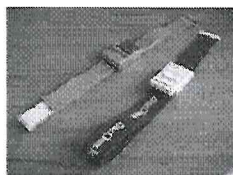
Proporcionar los conocimientos necesarios para obtener muestras de sangre venosa del paciente para determinaciones diagnósticas.

➤ **Definición:**

Consiste en la punción de una vena para la extracción de una muestra sanguínea. Actualmente es de empleo generalizado el sistema de extracción con tubos de vacío.

➤ **Materiales:**

- Etanol al 70%.
- Algodón.
- Ligadura de goma.
- Agujas n° 21.
- Tubos Vacutainer para recolectar muestras de sangre.
- Contenedor de Bioseguridad para descartar agujas.



Torniquete o compresor



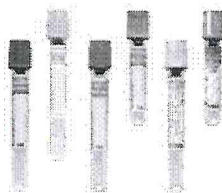
Guantes desechables



Apósitos o esparadrapo



Etanol 70% y algodón



Los tubos necesarios

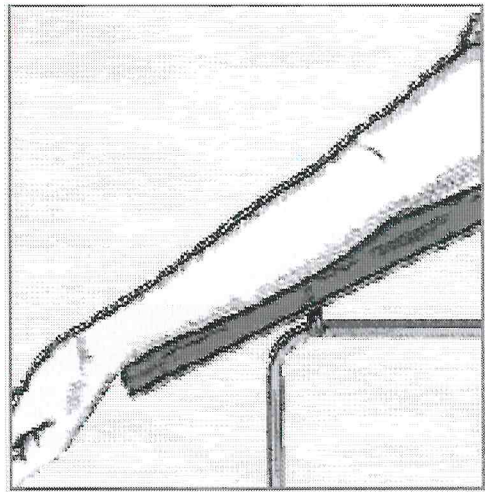


Jeringa, aguja mariposa o vacutainer

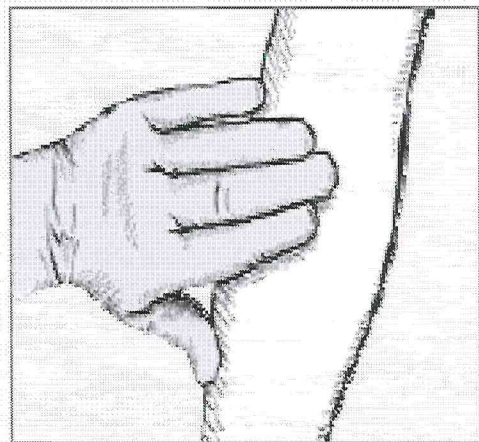


➤ **Técnica:**

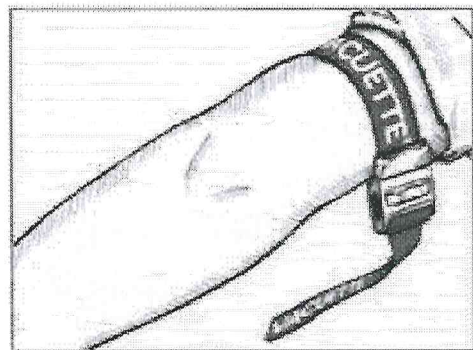
- Siempre es recomendable asegurarnos de la identidad del paciente o donante.
- Rotular con código y nombres completos los tubos de la muestra a extraer.
- Cuando el paciente esté cómodo echamos un vistazo a sus brazos para decidir un sitio para la punción. El brazo debe ser extendido y lo relajado posible.
Es importante verificar que en el sitio a puncionar la piel se encuentra indemne y lejos de focos de infección, ni haya otros problemas que puedan interferir.



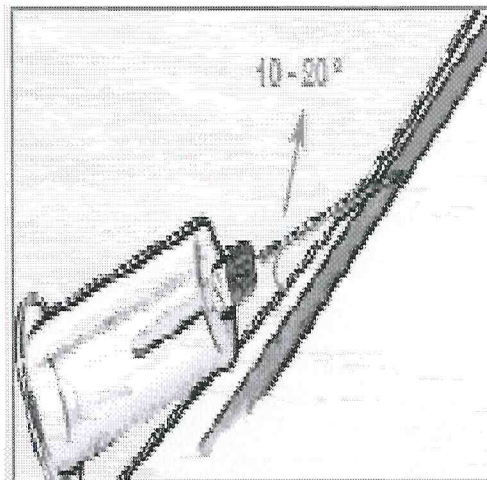
- Palpamos la vena para averiguar sus características (tamaño, elasticidad o rigidez, determinar si se desliza o no) y su curso.



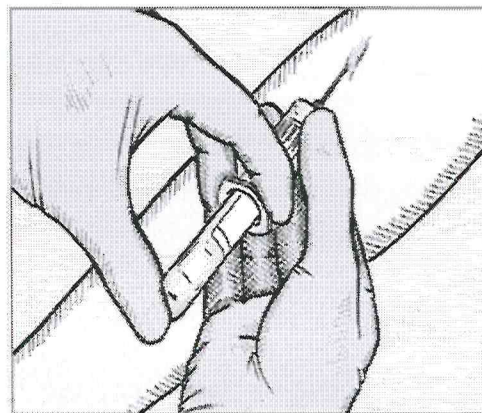
- Cuando hemos decidido el lugar de la punción soltamos el compresor y desinfectamos el sitio de la punción, volvemos a colocar el torniquete y procedemos a la punción.



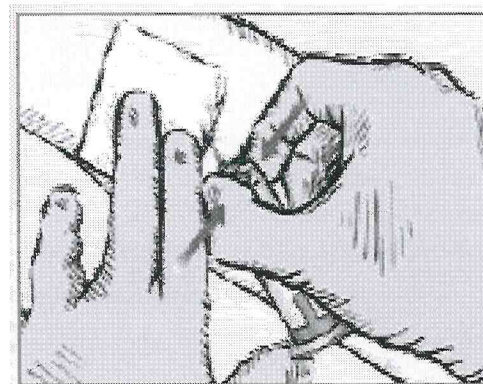
- Tomamos la aguja con una mano y sacamos con cuidado el capuchón. Con la mano libre nos aseguramos otra vez del curso de la vena y tensamos la piel sobre el sitio de punción. De esa manera fijamos la piel y la vena y facilitamos la punción. Acercamos la aguja situándola paralela al curso de la vena a puncionar.
- Con el bisel hacia arriba puncionamos la piel con un suave y rápido movimiento. La aguja se introduce con un ángulo de 10 a 20 grados procedemos a extraer la sangre.



- Pedimos al paciente de abrir el puño y llenamos todos los tubos necesarios. Los tubos llenados y quitados del sistema de extracción necesitan ser movidos unas cuántas veces (para distribuir los aditivos uniformemente) Hay que tener cuidado al quitar un tubo y poner el otro, a que no movamos la aguja en la vena, ni la empujemos ni tiremos en ella.



- Cuando hemos llenado y quitado el último tubo, soltamos el torniquete y colocamos un algodón sobre el sitio de la punción. Retiramos con cuidado la aguja. Desechamos la aguja en los contenedores designados. El paciente debe presionar durante unos minutos el sitio de punción y luego fijamos el algodón con esparadrapo.



OBTENCIÓN DE SANGRE CAPILAR

➤ **Objetivos:**

Extraer y recoger una muestra de sangre capilar con seguridad. Se usa para realizar los siguientes exámenes de laboratorio:

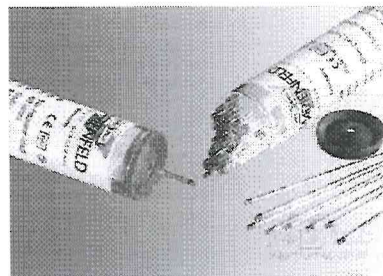
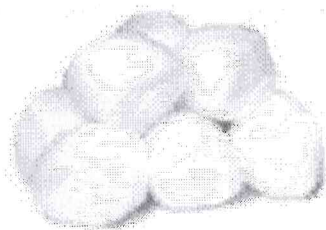
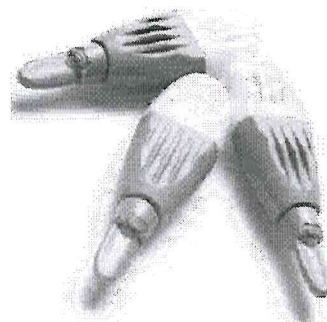
- Concentraciones del número de eritrocitos.
- Fracciones de volumen de eritrocitos.
- Cálculo de la cantidad de hemoglobina.

➤ **Definición:**

La sangre capilar es una mezcla de sangre de arteriolas, vénulas y capilares así como fluidos intersticiales e intracelulares.

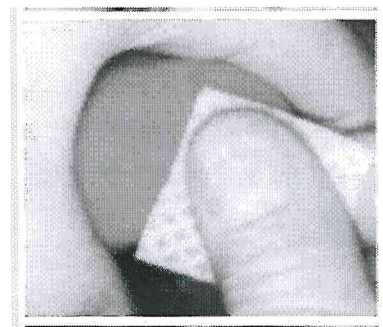
➤ **Materiales:**

- Guantes estériles.
- Lancetas, aguja.
- Algodón.
- Capilares.
- Alcohol.

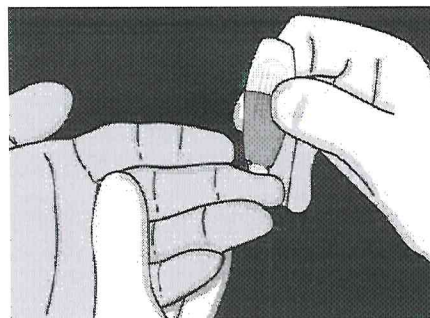


➤ **Técnica:**

- Identificar al paciente o donante
- Informar al paciente o donante del procedimiento.
- Seleccionar la zona de punción las cuales pueden ser: los laterales de los dedos anular medio y meñique.
- Desinfectar la zona de punción.



- Presionar la lanceta contra el punto de punción.
- Desechar la lanceta.
- Desechar la primera gota de sangre.
- Mantener el punto de punción hacia abajo.
- Recoger la sangre en el capilar.
- Colocar el algodón en el punto de punción.



HEMATOCRITO

➤ **Objetivos:**

Determinar la concentración del volumen de los glóbulos rojos.

➤ **Definición:**

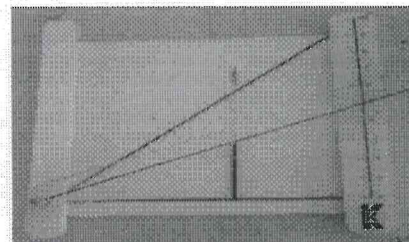
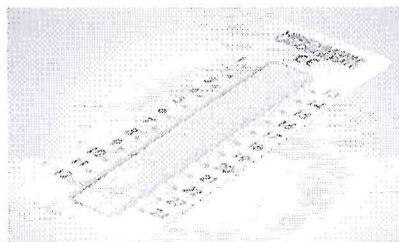
El hematocrito es un examen de sangre que mide la fracción que comprende a los glóbulos rojos, respecto al volumen total de la muestra de sangre venosa o capilar. Esta medición depende del número de glóbulos rojos y de su tamaño. El resultado se expresa en porcentaje

➤ **Método de Microescala:**

Se tiene el método de Microescala, la sangre se deposita en un tubo capilar largo y se centrifuga empleando un cabezal para microhematocrito. Luego se mide el nivel de la columna de eritrocitos por medio de una escala especial. Es el método más rápido y se emplea sangre extraída de un dedo.

➤ **Materiales:**

- Centrífuga para Microhematocrito.
- Una escala para medir los resultados.
- Tubos capilares con heparina de 75 mm de longitud y 1,5 mm de diámetro interior. Si la sangre venosa está mezclada con EDTA no será necesario que los tubos contengan heparina.
- Cera blanda.
- Lanceta para extracción de sangre capilar.



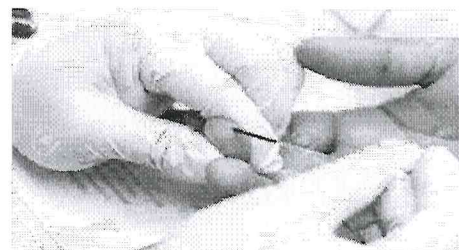
➤ **Técnica:**

- Obtener sangre capilar. La sangre deberá salir libremente o después de presionar muy suavemente el área.

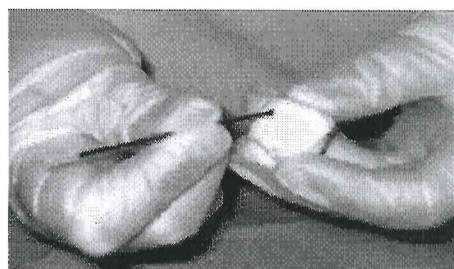


- Recoger la primera gota de sangre con un filtro de papel.

- Colocar el tubo capilar con heparina sobre la gota de sangre. La sangre ingresará en el tubo por capilaridad. Llenar los 3/4 del tubo.



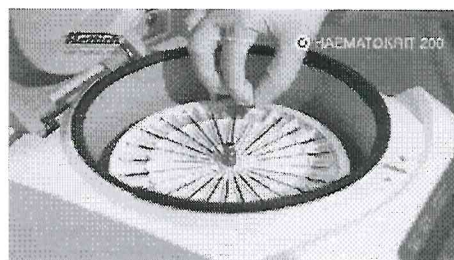
- Taponar el extremo contrario del tubo, que no ha estado en contacto con la sangre, con la cera blanda.



- Asegurarse que el taponamiento sea hermético y que la cera llegue a unos 2 mm de profundidad dentro del tubo.

- Disponer de una gradilla numerada en que haya colocado cera. Así el tubo de cada paciente se puede fijar en posición vertical junto al número que le corresponde.

- Colocar los tubos en las ranuras del cabezal de la centrífuga, el extremo del tubo que se ha taponado con cera deberá apuntar hacia fuera, lejos del centro. Verificar que el número de la ranura corresponda al número de la muestra.

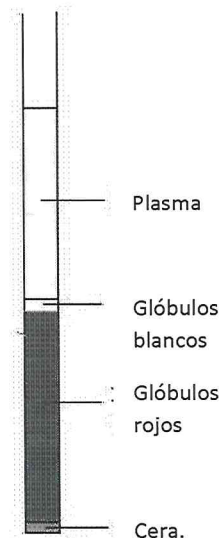


- Centrifugar a alta velocidad.



Al finalizar la centrifugación cada uno de los tubos tendrá en su interior tres capas:

- En la parte superior, una columna de plasma (P).
- A la mitad, una capa delgada de glóbulos blancos (GB).
- En la parte inferior y hasta el fondo, una columna de glóbulos rojos (GR).
- Se deberá trabajar al nivel del tope de la columna de glóbulos rojos.

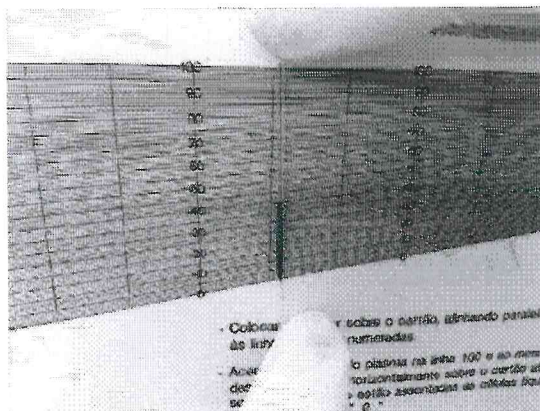


➤ **Lectura:**

- Sostener el tubo frente a la escala de manera que el fondo de la columna de los glóbulos rojos quede exactamente al mismo nivel que la línea horizontal correspondiente al 0.
- Desplazar el tubo a través de la escala hasta que la línea marcada con el número 1,0 quede al nivel del tope de la columna de plasma. Vigilar que el fondo de la columna de los glóbulos rojos continúe sobre la línea 0; también asegurarse que el tubo se encuentre en posición completamente vertical.

Leer la línea que pase al nivel del tope de la columna de glóbulos rojos, que indicará el hematocrito.

Las líneas finas no remarcadas de la escala corresponden a intervalos de 0,05.



➤ **Valores Normales De Hematocrito:**

Grupos de edad	Hematocrito
Hombres	40 - 50%
Mujeres	37 - 42%
Niños de 5 años	38 - 44%
Lactantes 3 meses	35 - 40%
Recién nacidos	50 - 58%



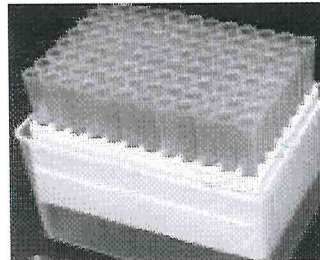
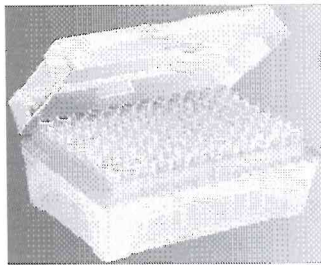
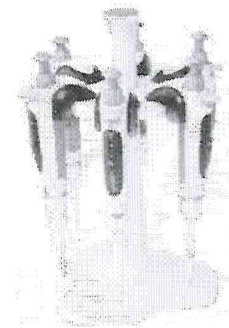
LAVADO Y SUSPENSIÓN DE GLÓBULOS ROJOS AL 5%

➤ **Objetivos:**

Eliminar el exceso de plasma o suero que pueda interferir con la aglutinación.

➤ **Materiales y Equipos:**

- Solución salina. Pipetas automatizadas.
- Tubos de ensayo.
- Puntas amarillas y azules.
- Gradillas.
- Sangre total.
- Centrifuga.

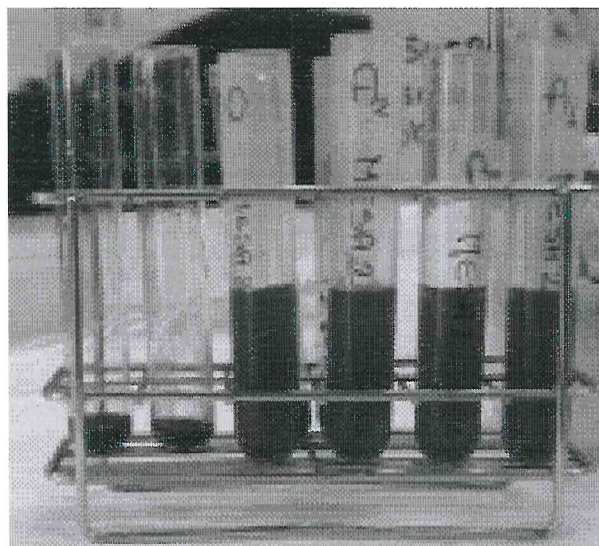


➤ **Procedimientos:**

- En un tubo n°1 agregar 100ul de Sangre total y 1900ul de la solución de cloruro de sodio y mezclar.
- En un tubo n°2 agregar 100ul de la dilución preparada en el tubo n°1 y agregar 4ml de solución de cloruro de sodio.
- Centrifugar 3500 rpm por 3 minutos, eliminar el líquido sobrenadante.



- Decantar la solución salina sobrenadante de forma manual.
- Agitar los tubos para resuspender los glóbulos rojos.
- Repetir el procedimiento del llenado con solución salina, el total de lavados serán cuatro.
- En el último lavado la solución salina debe ser clara sin signo de hemolisis.



TIPIFICACIÓN DE GRUPOS SANGUINEOS

➤ **Fundamentos Del Método:**

La determinación de grupos sanguíneos del sistema ABO se efectúa enfrentando los glóbulos rojos del paciente con anticuerpos monoclonales Anti-A, Anti-B o Anti-AB. La aglutinación o no de los hematíes ensayados frente a cada uno de los reactivos indica la presencia o ausencia de los correspondientes antígenos.

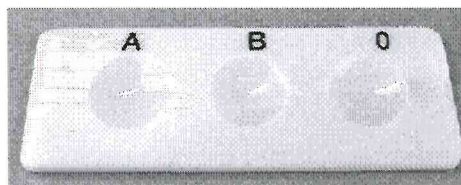
➤ **Reactivos:** Los reactivos se proveen listos para usar (No deben diluirse).

- Anti – A
- Anti – B
- Anti – D



➤ **Material Requerido:**

- Centrífuga.
- Placas.
- Palillos mezcladores descartables.



➤ **Muestra:**

- Glóbulos rojos o sangre total.



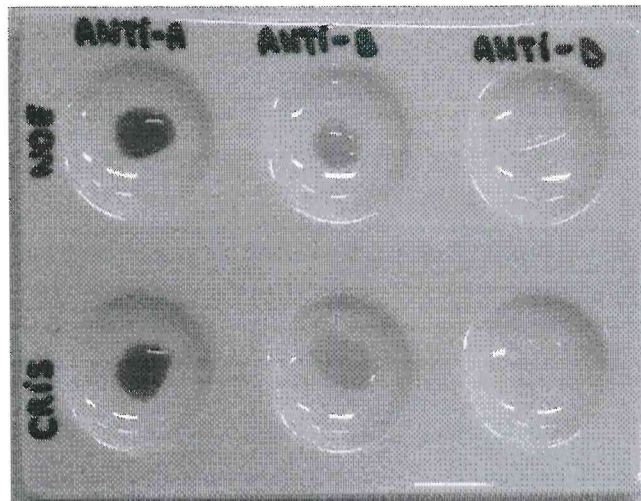
➤ **Técnica:**

✓ **Técnica en placa:**

- Colocar en una placa limpia y rotulada, una gota de Reactivo Anti-A, Anti-B o Anti - D monoclonal.
- agregar al lado 1 gota de glóbulos rojos. El gotero provisto dispensa un volumen de 50 ± 5 ul. Es importante que se mantenga la relación reactivo: células en todos los sistemas de ensayo.
- Mezclar el Reactivo y los glóbulos con un palillo descartable cubriendo un área circular y balancear la placa continuamente durante 2 minutos.
- Observar aglutinación visible macroscópicamente hasta los 2 minutos.

La observación puede facilitarse si se emplea una fuente de luz difusa. No debe emplearse microscopio.

Cuando se observa aglutinación débil debe repetirse la prueba utilizando la técnica en tubo (por centrifugación). Pueden agregarse 2 volúmenes de reactivo a 1 volumen de muestra para resaltar la aglutinación, sin riesgos de falsos positivos.

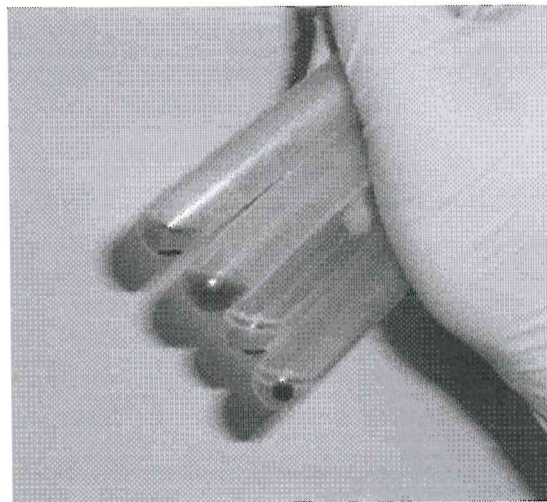


✓ **Técnica en Tubo (por centrifugación):**

- A una gota de Reactivo Anti-A, Anti-B y Anti-D monoclonal colocada en un tubo de hemólisis rotulado, agregar 1 gota de suspensión de glóbulos rojos al 3-5%.
- Mezclar y centrifugar 20 segundos a 1000 g.
- Agitar el tubo para despegar las células y examinar macroscópicamente la presencia o ausencia de aglutinación. La observación puede facilitarse si se emplea una fuente de luz difusa.

✓ **Técnica en Tubo (Por Sedimentación):**

- A una gota de Reactivo Anti-A, Anti-B o Anti-AB monoclonal colocada en un tubo de hemólisis rotulado, agregar 1 gota de suspensión de glóbulos rojos al 3-5%.
- Mezclar e incubar durante 60 minutos a temperatura ambiente.
- Agitar el tubo para resuspender las células y examinar macroscópicamente la aglutinación. La observación puede facilitarse si se emplea una fuente de luz difusa. Las reacciones en tubo deben ser leídas inmediatamente e interpretar los resultados sin demora.



➤ **Interpretación de los Resultados:**

✓ **Técnica en placa lectura:**

- Reacción positiva: los hematíes aglutinan en segundos y permanecen aglutinados al balancear la placa.
- Reacción negativa: no se observa aglutinación a los 2 minutos, indicando ausencia del antígeno correspondiente.

✓ **Técnica en tubo Lectura:** golpear suavemente el tubo para desprender el sedimento y examinar macroscópicamente la presencia o ausencia de aglutinación.

- Reacción negativa: no se observa aglutinación a los 2 minutos, indicando ausencia del antígeno correspondiente. La resuspensión de los glóbulos rojos es homogénea.
- Reacción positiva: los hematíes aglutinan en segundos y permanecen aglutinados una vez resuspendidos. Indica la presencia del antígeno eritrocitario correspondiente. En casos dudosos se recomienda esperar 2 minutos.

	A	B	AB	O	Rh+	Rh-
Anti-A						
Anti-B						
Anti-A y Anti- B						
Anti-Rh						



Aglutinación.



No aglutinación.



VARIANTE D^u

➤ **Objetivos:**

- Determinar si los individuos identificarlos como Rh “D” negativos no poseen la variante “D” débil (DU). Ya que esto puede producir anti-D de forma similar a la de los Sujetos Rh “D” positivo la cual es una causa de isoimmunización relacionada con la transfusión sanguínea.

➤ **Fundamento:**

Los hematíes del grupo D presentan diferencias en cuanto a su reactividad; se acepta que varios de los factores del sistema Rho, en ocasiones se expresan en forma débil, solo el Du tiene importancia en el banco de sangre debe sospecharse de ser Du, la sangre que son difíciles de clasificar como Rh positivos o negativos, utilizando solo el suero anti-D.

➤ **Materiales y Equipos:**

- Sangre total.
- Pipetas automatizadas.
- Puntas amarillas y azules.
- Tubos de ensayo
- Solución fisiológica.
- Gradillas.
- Reactivo anti – D.
- Suero de Coombs Poliespecífico.
- Centrifuga.
- Baño María.



➤ **Técnica:**

- Preparar una suspensión al 3-5% de glóbulos rojos en solución fisiológica.
- Colocar una gota de Anti-D (Rho) en un tubo de hemólisis rotulado.
- Agregar una gota de la suspensión de glóbulos rojos lavados.



- Mezclar e incubar a 37 °C durante 15-30 minutos.
- Lavar las células 3-4 veces con solución fisiológica, descartando perfectamente la solución salina residual o sobrenadante y resuspender las células luego de cada lavado.
- Agregar 2 gotas de Suero Anti-humano (poliespecífico), mezclar y centrifugar 1min a 1000 rpm.
- Agitar ligeramente el tubo para despegar las células y examinar macroscópicamente presencia o ausencia de aglutinación. La observación puede facilitarse si se emplea una fuente de luz difusa.

➤ **Interpretación de los resultados:**

La observación de aglutinación (con cualquiera de las técnicas empleadas) indica presencia del antígeno D; la reacción es positiva y el individuo será clasificado como Rh positivo.

La aglutinación de los glóbulos rojos en estudio con el reactivo anti-D por la prueba antiglobulina indirecta para D débil, indica que los glóbulos pertenecen a la variedad D débil (siempre que los glóbulos rojos resulten Coombs directo negativo).

La no aglutinación con el reactivo Anti-D en la prueba antiglobulina indirecta para D débil indica ausencia del correspondiente antígeno; la reacción es negativa y el individuo será clasificado como Rh negativo.



PRUEBA DE COOMBS DIRECTA

➤ **Objetivos:**

- Diagnóstico de laboratorio de anemia hemolítica y enfermedad hemolítica del recién nacido.
- Investigación de reacciones dudosas en una transfusión.
- Investigación de enfermedades autoinmunes que involucran la unión de inmunoglobulinas y/o fracciones del complemento a los glóbulos rojos.

➤ **Fundamento:**

El agregado de Suero Anti-humano (poliespecífico) a glóbulos rojos cubiertos de inmunoglobulinas y/o fragmentos de complemento produce una aglutinación de los glóbulos rojos visible macroscópicamente.

Se emplea para demostrar la absorción "in vivo" de Ig G y/o fracciones del complemento en la superficie de los glóbulos rojos.

Materiales y Equipos:

- Pipetas automatizadas.
- Puntas amarillas y azules.
- Tubos de ensayo
- Gradillas.
- Centrifuga.
- Baño María

➤ **Reactivos:**

- Suero de Coombs Poliespecífico.
- Solución fisiológica.

➤ **Muestra:**

- Sangre total.



➤ **Técnica:**

- Preparar una suspensión de glóbulos rojos al 5%.
- En un tubo colocar 1 gota de esta suspensión.
- Lavar los glóbulos 3 veces con solución salina al 0.9 %. Asegurarse de remover la mayor cantidad posible de solución salina al final de cada lavado, de manera de obtener un botón celular “seco”.
- Descartar completamente el sobrenadante luego del último lavado.
- Agregar 1 gotas de Suero de Coombs Poliespecífico al botón de células.
- Mezclar perfectamente y centrifugar durante 1 minuto a 1.000 rpm.
- Agitar suavemente el tubo a fin de deshacer el botón celular y observar macroscópicamente.

• La observación puede facilitarse si se emplea una fuente de luz difusa. Tener en cuenta que agitaciones demasiado vigorosas pueden dar lugar a lecturas negativas de un aglutinado débil (falso negativo).

- Los resultados negativos deben confirmarse por adición de glóbulos rojos sensibilizados con Ig G débiles.

➤ **Interpretación de los resultados:**

La observación de aglutinación en presencia del Suero de Coombs Poliespecífico indica la presencia de Ig G o componentes del complemento en la membrana del glóbulo rojo; la reacción es positiva. Si no se observa aglutinación, la reacción es negativa.

PRUEBA DE COOMBS INDIRECTA

➤ **Objetivos:**

- Screening de suero de donantes y pacientes para anticuerpos irregulares.
- Pruebas de compatibilidad previas a la transfusión.
- Fenotipo de glóbulos rojos.
- Identificación y titulación de anticuerpos encontrados en suero.
- Detecta anticuerpos antieritrocitarios en el suero materno.

➤ **Fundamento:**

El agregado de Suero Anti-humano (policapécifico) a glóbulos rojos cubiertos de inmunoglobulinas y/o fragmentos de complemento produce una aglutinación de los glóbulos rojos visible macroscópicamente.

➤ **Materiales y Equipos:**

- Pipetas automatizadas.
- Puntas amarillas y azules.
- Tubos de ensayo
- Gradillas.
- Centrifuga.
- Baño María
- Solución fisiológica.

➤ **Reactivos:**

- Suero de Coombs Poliespecífico.
- Albumina bovina al 22%

➤ **Muestra**

- Sangre Total
- Suero



➤ **Técnica:**

Fase I

- Lavado y suspensión de glóbulos rojos al 5% de grupo "o" Rh positivo conocido.
- En un tubo agregar dos gotas del suero del paciente más una gota de la suspensión de glóbulos rojos al 5%.
- Centrifugar a 3 500 rpm por 3 minutos.
- Desprender suavemente el botón de células del fondo del tubo. Observar:
- Si hay aglutinación y/o hemolisis (positivo). Termina el proceso.
- Si no hay aglutinación (negativo). Seguir con la siguiente fase.

Fase II.

- Agregar dos gotas de albumina bovina al 22% y mezclar.
- Encubar a 37°C por 15 minutos.
- Centrifugar a 1000 rpm por 1 minuto.
- Desprender suavemente el botón de células del fondo del tubo. Observar:
- Si hay aglutinación y/o hemolisis (positivo). Termina el proceso.
- Si no hay aglutinación (negativo). Seguir con la siguiente fase.

Fase III.

- Lavar cuatro veces con solución salina y centrifugar a 3000 rpm por 2 minutos y desechar el sobrenadante.
- Agregar dos gotas de reactivo Suero de Coombs Poliespecifico.
- Centrifugar inmediatamente 1000 rpm por 1 minuto.
- Desprender suavemente el botón de células del fondo del tubo. Observar:
- Si hay aglutinación y/o hemolisis (positivo).
- Si no hay aglutinación (negativo).



TITULACIÓN DE ANTICUERPOS

- Preparar diluciones seriadas al 1/2, 1/4 hasta.....1/1024. Colocar 100 ul de solución salina al 0.9% en cada tubo rotulado de cada dilución, luego agregar al primer tubo 100 ul del suero del paciente, mezclar y transferir 100 ul al segundo tubo y mezclar y así sucesivamente hasta el último tubo.
- Agregar 50 ul de glóbulos rojos lavados al 5% a cada dilución.
- Agregar 100ul de albumina bobina al 22%.
- Agitar con suavidad e incubar durante 30 min a 37°C.
- Mezclar con suavidad y lavar 4 veces con solución salina a 3 500 rpm por 3 min, eliminar por completo el sobrenadante del lavado final.
- Agregar 2 gotas de suero antiglobulina humana.
- Mezclar con suavidad y centrifugar a 1000 rpm por 1 min.
- Examinar los glóbulos rojos, graduar y registrar las reacciones.
- ☒ La reacción se tiene que graduar de acuerdo al grado de aglutinación y hemolisis en 4+,3+,2+,1+,0+. El título es la inversa de la dilución más alta de suero que exhibe una reacción (es decir dilución 1/128, título 128).
- ☒ El score se realiza a la siguiente leyenda:
 - 4+ = 10 pts.
 - 3+ = 8 pts.
 - 2+ = 6 pts.
 - 1+ = 4 pts.

Así el score es la suma de los puntos dada a cada reacción, hasta donde el suero exhibe una reacción de 1+.

Ejemplo:

Dilución	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024
Reacción	4+	4+	3+	2+	2+	1+	1+	1/2+	0	0	0
Score	10	10	8	6	6	4	4	-----	-----	-----	-----

Por lo tanto:

- Título: 128 dils.
- Score: 48



PRUEBAS CRUZADAS

➤ **Objetivo:**

Permite conocer si existe afinidad serológica entre la sangre de una persona donante y la de un receptor.

➤ **Fundamento:**

Se pone en contacto los Glóbulos Rojos del donador y el suero del receptor, y los glóbulos rojos del receptor con el suero del donador, en presencia del suero de Coombs

➤ **Materiales y equipos:**

- Centrifuga.
- Baño María.
- Gradilla.
- Pipeta automatizada.
- Tubo de ensayo.

➤ **Reactivos:**

- Albumina al 22%.
- Suero de Coombs Poliespecífico.
- Solución Salina.

➤ **Muestra**

- Sangre Total
- Suero

➤ **Técnica:**

Fase I (prueba mayor)

- Lavado y suspensión de glóbulos rojos del donante al 5%.
- En un tubo agregar dos gotas del suero del receptor más una gota de glóbulos rojos al 5% del donante.
- Centrifugar a 3500 rpm por 3 minutos.
- Desprender suavemente el botón de células del fondo del tubo.
- Observar:



- Si hay aglutinación y/o hemolisis (positivo). Termina el proceso.
- Si no hay aglutinación (negativo). Seguir con la siguiente fase.

Fase II.

- Agregar dos gotas de albumina bovina al 22%, mezclar.
- Encubar a 37°C por 15 minutos.
- Centrifugar a 1000 rpm por 1 minuto.
- Desprender suavemente el botón de células del fondo del tubo.
- Observar:
- Si hay aglutinación y/o hemolisis (positivo). Termina el proceso.
- Si no hay aglutinación (negativo). Seguir con la siguiente fase.

Fase III.

- Lavar cuatro veces con solución salina y centrifugar a 3500 rpm por 3 minutos y desechar el sobrenadante.
- Agregar dos gotas de reactivo Suero de Coombs Poliespecífico.
- Centrifugar inmediatamente 1000 rpm por 1 minuto.
- Desprender suavemente el botón de células del fondo del tubo.

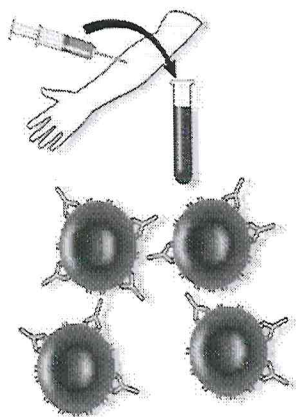
Observar:

- Si hay aglutinación y/o hemolisis (positivo). No compatible
- Si no hay aglutinación (negativo). Es compatible.

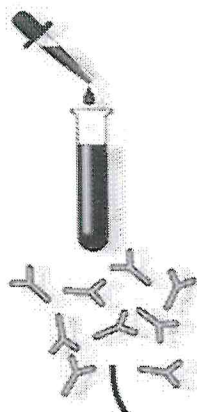


IV. ANEXOS

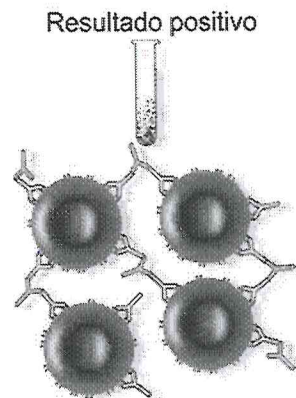
PRUEBA DE COOMBS DIRECTA



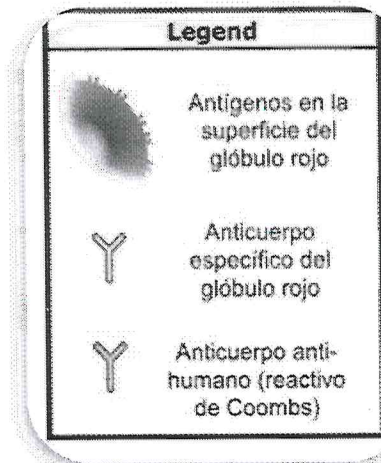
Muestra
de
sangre



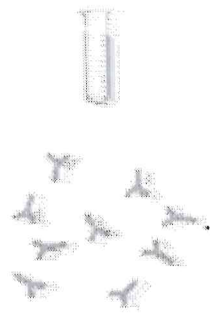
Los Globulos rojos
lavados se incuban
con anticuerpos anti
- humanos (reactivo
de Coombs)



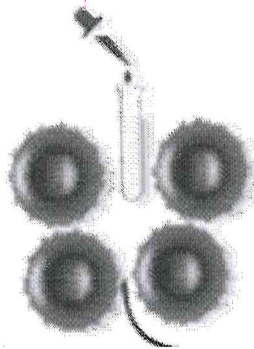
Resultado positivo
Los globulos rojos se
aglutinan: anticuerpos
anti - humanos
vinculan las celulas,
uniendose a los
anticuerpos en los
globulos rojos.



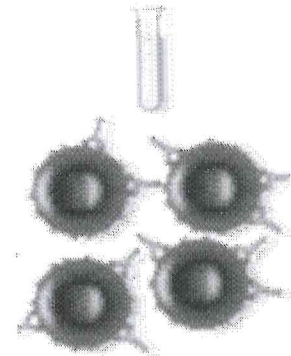
PRUEBA DE COOMBS INDIRECTA



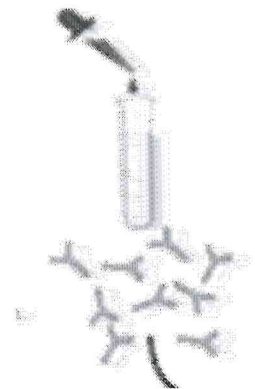
Suero del receptor



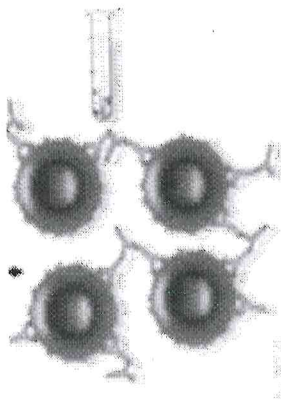
Muestra de sangre del donante se agrega al suero del receptor.



Las Ig que son específicas de los Ag de los glóbulos rojos forman complejos Antígeno - anticuerpo

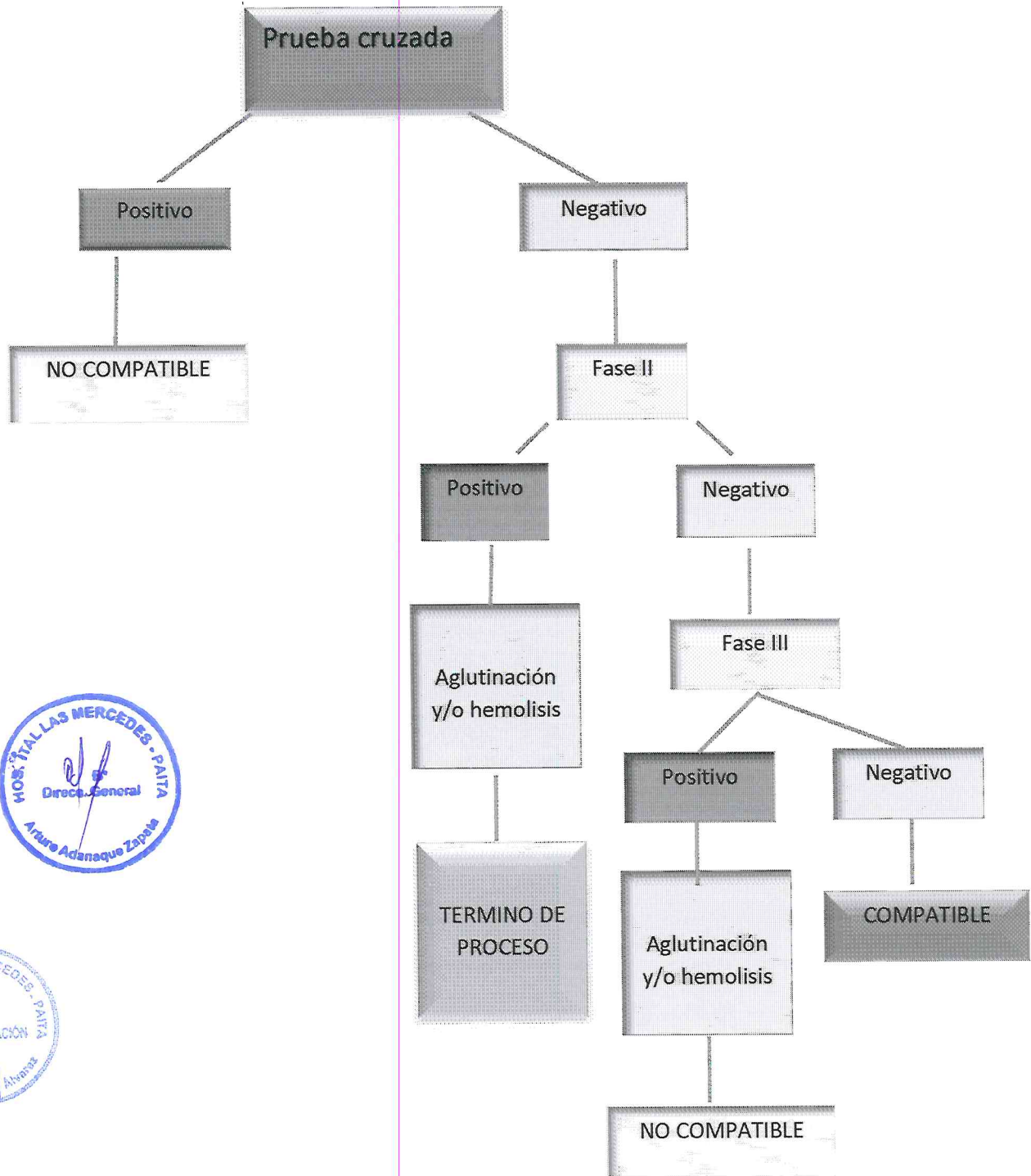


Anticuerpos anti humanos se añaden a la solución.



Las Ig humanas se unen a los glóbulos rojos (aglutinación).

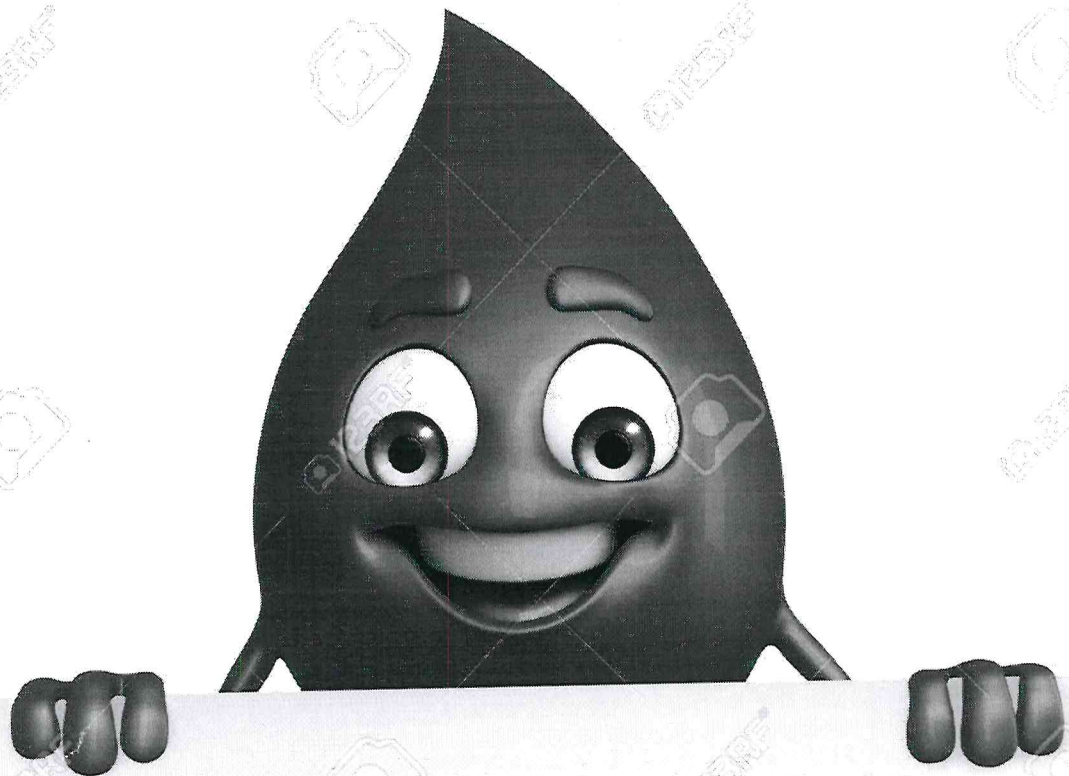




BIBLIOGRAFIA

- ✓ http://www.hgm.salud.gob.mx/pdf/area_medica/banco_sangre/ManProcBanco deSangre.pdf.
- ✓ Manual De Gestión De La Calidad En Banco De Sangre De Pronahebas. [http://www.minsa.gob.pe/portada/Especiales/donasangre/Archivos/bases/RM %20614-2004%20%20gestion%20de%20la%20calidad.pdf](http://www.minsa.gob.pe/portada/Especiales/donasangre/Archivos/bases/RM%20614-2004%20%20gestion%20de%20la%20calidad.pdf)
- ✓ Rodríguez-Moyado H, Quintanar-García E, Mejía- Arregui MH. 2004. El Banco de Sangre y la Medicina Transfusional. Primera edición. México, Editorial Panamericana; p. 159-160.
- ✓ Procedimientos de laboratorio: manual: laboratorios locales I: laboratorios locales II / Elaborado por Susana Zurita Macalupú. – Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, 2013.





CRITERIOS DE SELECCIÓN DE DONANTES



BANCO DE SANGRE

2016



PRE- SELECCIÓN DEL DONANTE

Requisitos del postulante:

- ☒ El postulante vendrá al servicio de Banco de Sangre en ayunas.
- ☒ Un día antes de la entrevista no ingerir alimentos que contengan grasas y dulces.
- ☒ No ingerir alcohol durante las 72 horas previas.
- ☒ Antes de la donación ingerir 500 ml de agua.

Entrevista:

- ☒ Se realizara a todos los postulantes, permite la detección de factores de riesgo a enfermedades hemotransmisibles, particularmente en el periodo de ventana, en donde el tamizaje es negativo.
- ☒ El interrogatorio debe ser minucioso, confidencial es por esto que debe ser en un ambiente privado.
- ☒ El evaluador, deberá aclarar las dudas del postulante y dará las explicaciones pertinentes.
- ☒ El evaluador deberá avalar la encuesta con su firma.
- ☒ Si el postulante fuera rechazado, se le explicara el motivo y se le orientara sobre una posterior ampliación de su diagnóstico.
 - Examen físico del donante.
 - Pruebas de laboratorio.
 - Autoexclusión voluntaria.

Selección del donante:

- ☒ Registro para la selección del donante:
 - Edad: 18-55 años para varones y mujeres.
 - Peso: mínimo 55 kg.
 - Talla:
 - Mujeres 1.55 cm
 - Varones 1.60 cm
 - Pulso: entre 50 y 100 latidos por minuto.
 - Temperatura 37 °C si se mide en forma oral, o la medida equivalente si se hace por otro método.
 - Hematocrito:

	Mínimo	Máximo
Mujeres	40%	46%
varones	44-45%	50%



- ✗ Intervalo de Tiempo entre Donaciones después de la donación de Sangre Total
 - Mujeres: 4 meses
 - Varones: 3 meses.

Pertenecen a grupos de riesgo:

- ✗ Vendedores de sangre.
- ✗ Drogadictos.
- ✗ Promiscuos sexuales, prostitutas, homosexuales y bisexuales.
- ✗ Postulantes con antecedentes de enfermedades venéreas.
- ✗ Postulantes internas en instituciones penales o mentales.
- ✗ Postulantes con antecedentes de contacto sexual o sospechoso de HIV.
- ✗ Haber tenido Hepatitis, Bartonellosis o enfermedades de Chagas.
- ✗ Historia familiar de recepción de tejidos o derivados de tejidos (duramadre, hormonas de crecimiento de la pituitaria de origen humano).

Diferido permanentemente:

- ✗ Enfermedades cardiacas.
- ✗ Enfermedades hematológicas.
- ✗ Brucelosis.
- ✗ Enfermedades reumáticas.
- ✗ Cáncer.
- ✗ Enfermedades neuropsiquiátras.
- ✗ Epilepsia.
- ✗ Intervención quirúrgica si se utilizó anestesia general.
- ✗ Insuficiencia Renal crónica.
- ✗ Uso de corticoides prolongados.
- ✗ IMC > 40
- ✗ Diabetes mellitus con tratamiento de insulina.

Diferido por un periodo de 12 meses:



- ✗ Receptores de paquete globular, plaquetas, leucocitos, plasma en sus diferentes formas, factores de coagulación, incluyen donantes que se encuentren en programas de inmunización.
- ✗ Personas que han recibido injertos de piel o se han practicado tatuajes, acupunturas u orificios en las orejas.
- ✗ Personal de unidad de diálisis.
- ✗ Personas con fiebre de origen desconocido.



Diferidos por un periodo de 6 meses:

- ✗ Donantes que han estado en contacto con pacientes de hepatitis.
- ✗ Mononucleosis infecciosa.

Asma – alergia:

- ✗ Donantes sin manifestaciones clínicas, ni tratamiento durante el día de la donación, Aceptados.
- ✗ Si esta asintomático y en tratamiento profiláctico con b-bloqueadores como salbutamol, aceptado.
- ✗ Si esta asintomático y en tratamiento profiláctico con corticoides diferido por 2 semanas.

Enfermedades respiratorias:

- ✗ Cuadro respiratorio agudo, diferido hasta su curación.
- ✗ Tuberculosis activa: diferidos, hasta 5 años después de su curación.

Hipertensión arterial:

- ✗ Pacientes con hipertensión arterial controlada y con un solo medicamento al momento de la donación, aceptado.
- ✗ Pacientes con hipertensión arterial controlada y con dos medicamentos al momento de la donación, diferir.

Enfermedades virales:

- ✗ Resfrió común diferidos por 2 semanas a partir de que desaparecieron los síntomas.
- ✗ Contacto con sarampión, rubeola deben diferirse por 3 semanas.

Enfermedades renales:

- ✗ Pueden ser aceptados si están asintomáticos y sin tratamiento.
- ✗ Postulantes con tratamiento de ITU después de 2 semanas.



Paludismo:

- ✗ Diferidos por 3 años, una vez que recibió el tratamiento y hubo curación completa.
- ✗ Viajeros en áreas endémicas de paludismo y que no hicieron la enfermedad, diferir por 1 año.

Enfermedades de la piel:

- ✗ Aceptados quienes estén libres de lesiones en la piel, concretamente en las áreas de punción venosa o áreas vecinas, siempre y cuando no se observe que la herida no este infectada.
- ✗ Lesiones infectadas, diferir.
- ✗ Vitíligo, aceptado.
- ✗ Psoriasis que no está en tratamiento, aceptado.

Enfermedades gastrointestinales:

- ✗ Aceptados.

Intervenciones quirúrgicas:

- ✗ En cirugías mayores con anestesia epidural o raquídea diferir por 6 meses.
- ✗ En cirugías mayores si se utilizó anestesia general, diferir por 1 año.
- ✗ Procedimientos odontológicos diferir 72 horas.

Menstruación:

- ✗ Cuando el sangrado es anormal o activo se difiere transitoriamente.
- ✗ Después de su último día de menstruación se difiere por 6 días.

Embarazo actual:

- ✗ 1 año después de finalizar el embarazo, en caso de donación rutinaria.
- ✗ Después del parto vaginal, siempre y cuando no estén dando de lactar.



Medicamentos:

- ✗ Si está ingiriendo antibiótico, diferir por 2 semanas una vez que ha concluido su terapia, siempre y cuando se curó de su patología.
- ✗ Finasteride (Proscar, Propecia), Isotretinoin (Accutane), diferir por 1 mes.
- ✗ Acitretin (Soriatane) - Diferir 3 años.
- ✗ Etretnate (Tegison) - Diferir definitivamente.
- ✗ Fluconazol no dona plasma, ni plaquetas.
- ✗ Ácido valproico diferir 20 días.
- ✗ Fenitoina diferir 2 meses.
- ✗ Etosuxamida diferir 2 meses.
- ✗ Fenobarbital diferir 6 meses.
- ✗ Sales de oro diferir 2 años.
- ✗ Penicilamina diferir 4 meses.
- ✗ AINES solo dona plaquetas, diferir 48 horas.

Vacunas:

- ✗ Recepción de toxoides o vacunas no preparadas con organismos vivos sintéticas o virales bacterianas o rickettsias, si el donante se encuentra libre de síntomas y afebril – **aceptados.**
- ✗ vacuna antitetánica por accidente - **diferir 1 mes**
- ✗ Recepción de vacunas preparadas con organismos vivos atenuados (virales o bacterianas. Ántrax, Cólera, Difteria, Hepatitis A, Hepatitis B, Influenza, Enfermedad de Lyme, Paratifoidea, Pertrusis, Peste, Polisacárido Neumocócico, Polio (inyección), Rabia (no exposición), Fiebre de las Montañas Rocosas, Tétano, Tifoidea (por inyección)) - **diferir por 4 semanas.**
- ✗ Recepción de vacunas preparadas con organismos vivos atenuados (virales o bacterianas), Sarampión (rubéola), Paperas, Polio (oral), Tifoidea (oral), Fiebre Amarilla, Sarampión alemán (rubéola), Varicela Zóster (viruela del pollo)- **diferir por 4 semanas.**
- ✗ Globulina Inmune de Hepatitis B (HBIG), vacunas sin licencia (excepto la vacuna de VIH, que difiere indefinidamente), inmunización de la rabia si se da después de un mordisco u otra exposición a un animal que potencialmente tenga rabia - **diferir por 12 meses.**

