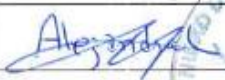






Manual de Inmunohematología

	RESPONSABLE ELABORACIÓN	REVISÓ Y APROBÓ
NOMBRE	Alejandra Carrillo Barrera	Dr. René Cumplido Ortiz
CARGO	Tecnólogo Médico Supervisor (s)	Médico Jefe
FECHA	25 Marzo 2015	25 Marzo 2015
FIRMA		



INDICE / CONTENIDO

<u>Contenidos:</u>	<u>Página</u>
Clasificación ABO y Rh D en tubo	02
Clasificación ABO y Rh D en lámina	09
Clasificación ABO – RhD y Test de Antiglobulina Directo en GEL para Recién Nacidos.	13
Investigación de RhD variante para Recién Nacidos	18
Test de Coombs directo en gel	24
Test de Coombs indirecto en gel	28
Estudio de muestras Coomb Directo positivo en pacientes de policlínico oncología	32
Titulación de anticuerpos irregulares	37
Estudios pre-transfusionales	42
Pruebas de compatibilidad en gel	44
Toma de muestras en UMT	48
Definiciones y Abreviaturas	52
 <u>Anexos:</u>	 <u>Página</u>
Anexo N°1: Identificación de muestras.	53
Anexo N°2: Manejo de la centrifugar ROTOFIX 32 A.	53
Anexo N°3: Registro de resultados para clasificación ABO-Rh, Test de Antiglobulina humana y Detección de anticuerpos irregulares.	54
Anexo N°4: Manejo de centrífuga DG Spin.	55
Anexo N°5: Manejo del incubador DG Therm.	55
Anexo N°6: Manejo de la fuente de luz.	56
Anexo N°7: Preparación de reactivos.	56
Anexo N°8: Preparación de glóbulos rojos testigos.	57
Anexo N°9: Registro de resultados de Pruebas de Compatibilidad.	58

	Manual de Inmunoematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 2 de 59

CLASIFICACIÓN ABO Y RH D EN TUBO

I.- Objetivo:

La clasificación ABO y Rh D en tubo, permite la clasificación de los grupos sanguíneos mediante la detección de los antígenos A y B presentes en la membrana del eritrocito, pudiendo clasificar donantes y receptores en los cuatro grupos sanguíneos existentes (A, B, AB y O). Además determina la presencia de anticuerpos naturales (anti A y anti B). Permite también la detección de los antígenos del tipo Rh D en la membrana de los eritrocitos. Esta técnica será realizada en muestras de **pacientes mayores de 6 meses**.

II.- Alcance:

Médico solicitante.

Funcionarios de la Unidad de Medicina Transfusional, como Médico jefe, Tecnólogo Médico Supervisor, Tecnólogos Médicos y Técnicos Paramédicos. Todo paciente susceptible de recibir una transfusión de hemocomponentes.

III.- Encargado de la ejecución y su responsabilidad:

Tecnólogo médico: La clasificación ABO y Rh D es responsabilidad del Tecnólogo Médico de turno en sección de Inmunoematología.

Técnico Paramédico: preparar material e insumos necesarios para que Tecnólogo Médico realice análisis de clasificación ABO y Rh D.


IV.- Desarrollo:

4.1 Desarrollo

4.1.1 Reunir los siguientes materiales: muestra de 5 ml de sangre sin anticoagulante, tubos Khan, gradilla, lápiz marcador, sueros anti A, anti B y anti D, glóbulos rojos testigos A y B, pipetas plásticas, centrífuga DiaCent-12 DiaMed, fuente de luz.

4.1.2 Enumerar 6 tubos Khan correlativamente con las siguientes indicaciones.

- Tubo 1: A
- Tubo 2: B
- Tubo 3: Rh
- Tubo 4: G.R A
- Tubo 5: G.R B
- Tubo 6: PA

	Manual de Inmunohematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 3 de 59

- 4.1.3 Ordenar tubos correlativamente en gradilla.
- 4.1.4 Obtener muestra de sangre del paciente a clasificar en tubo sin Anticoagulante
- 4.1.5 Identificar muestra. Ver anexo N°1 Identificación de muestras.
- 4.1.6 Centrifugar muestra a 4000 rpm por 5 minutos en centrífuga Rotofix 32 A, Hettich Zentrifugen. Ver anexo N°2: Manejo de la centrífuga Rotofix 32 A, Hettich Zentrifugen.
- 4.1.7 Agregar 2 gotas de suero del tubo del paciente al tubo 1, 2,3 y tubo 6.
- 4.1.8 Agregar 2 gotas de suero anti A al tubo 1.
- 4.1.9 Agregar 2 gotas de suero anti B al tubo 2.
- 4.1.10 Agregar 2 gotas de suero anti D al tubo 3.
- 4.1.11 Resuspender glóbulos rojos de muestra en su propio suero a concentración de 3-4%.
- 4.1.12 Agregar 1 gota de suspensión realizada en el punto anterior en tubos 1, 2, 3 y 6.
- 4.1.13 Agregar 1 gota de glóbulos rojo testigo A al tubo 4. Ver anexo N°8 Preparación de glóbulos rojos testigo.
- 4.1.14 Agregar 1 gota de glóbulos rojo testigos B al tubo 5.
- 4.1.15 Centrifugar tubos 15 segundos a 1500 rpm en centrífuga DiaCent-12 DiaMed.
- 4.1.16 Agitar tubos para desprender el botón de aglutinación.
- 4.1.17 Determinar la presencia de aglutinación sobre una fuente de luz. Ver anexo N°6: Manejo de fuente de luz.
- 4.1.18 Interpretar los resultados.
- 4.1.19 Registrar los resultados. Ver anexo N °3 Registro de resultados.

4.2 Descripción del procedimiento:

4.2.1 El procedimiento se realiza en la sección de Inmunohematología de la Unidad de Medicina Transfusional.

4.2.2 El procedimiento debe ser realizado por el Tecnólogo Médico encargado de la sección de Inmunohematología.

4.2.3 El procedimiento tarda aproximadamente 15 minutos por muestra.

4.3 Documentos relacionados:

4.3.1 Instructivo de clasificación ABO y Rh D en tubo

4.3.1.1 Marcar 6 tubos como: A, B, Rh, GR A, GR B y PA.

4.3.1.2 Obtener una muestra de sangre del paciente.

4.3.1.3 Identificar muestra.

4.3.1.4 Centrifugar muestra.

4.3.1.5 Agregar suero del tubo del paciente al tubo 4, tubo 5 y tubo 6.

4.3.1.6 Agregar antisuero a tubo 1, 2 y 3.

4.3.1.7 Resuspender los glóbulos rojos en su propio suero.

4.3.1.8 Agregar 1 gota de la suspensión a tubos 1, 2, 3 y 6.

4.3.1.9 Agregar glóbulos rojo testigo.

4.3.1.10 Centrifugar tubos para lectura.

4.3.1.11 Leer.

4.3.1.12 Registrar los resultados.

4.4 Interpretación

	ANTI A	ANTI B	ANTI D	GR A	GR B	PA
A +	+	0	+	0	+	0
B +	0	+	+	+	0	0
AB +	+	+	+	0	0	0
O +	0	0	+	+	+	0
A (-)	+	0	0	0	+	0
B (-)	0	+	0	+	0	0
AB (-)	+	+	0	0	0	0
O (-)	0	0	0	+	+	0

4.5 Factores de error:

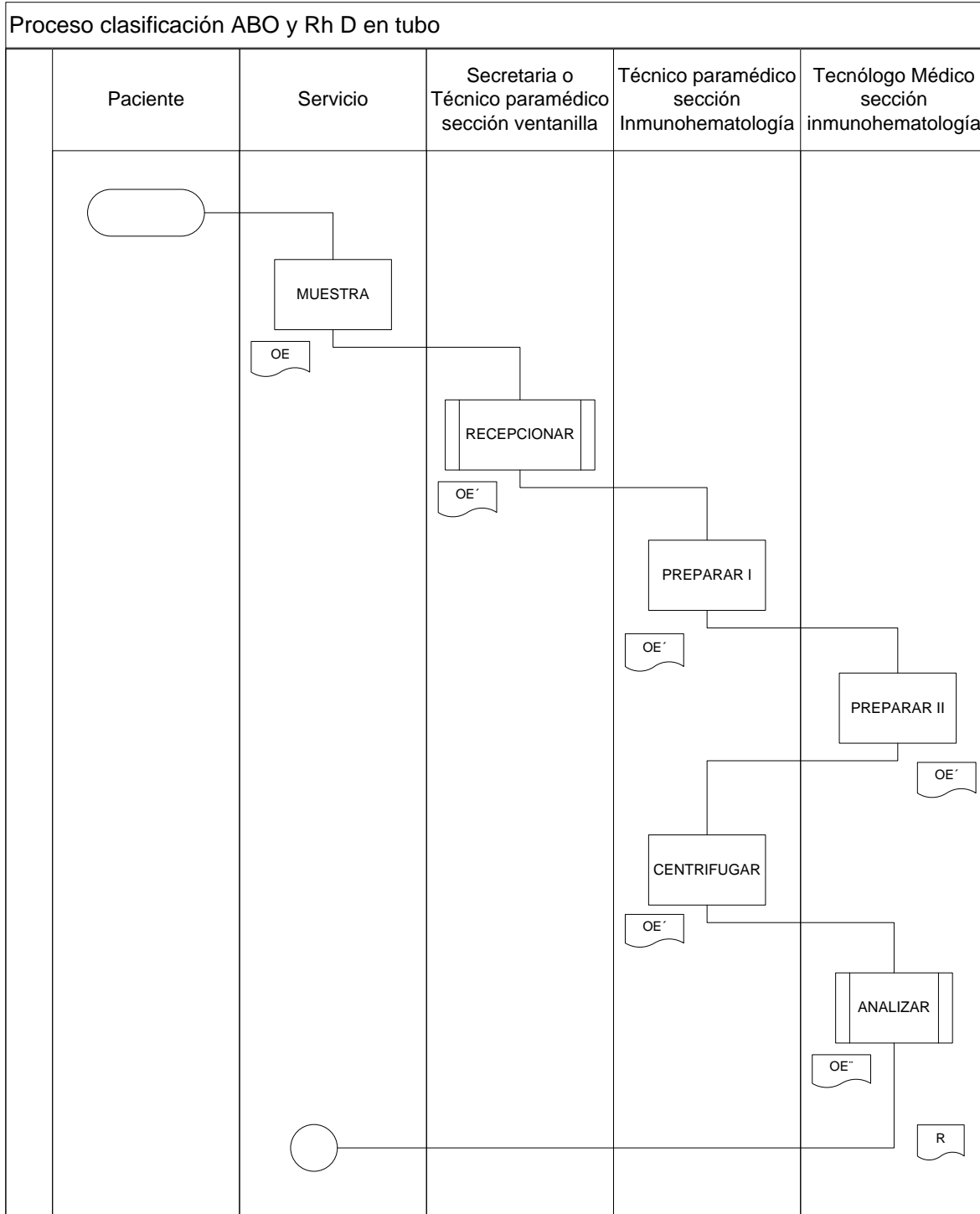
Falsos negativos

- a) Dependiendo de los glóbulos rojos
 - Muestra hemolizada
 - Inadecuada concentración de glóbulos
 - Emplear glóbulos rojos testigo con antígenos débiles
- b) Dependientes del suero
 - Emplear suero de bajo título
 - Emplear sueros vencidos
 - Emplear sueros mal conservados
 - Presencia de hemolisinas en el suero en estudio
- c) De orden físico
 - Lectura apresurada y breve
 - Temperatura inadecuada
 - Centrifugación inadecuada en tiempo y/o velocidad


Falsos positivos

- a) Dependientes de los glóbulos rojos
 - Contaminación bacteriana
- b) Dependientes del suero
 - Contaminación bacteriana
 - Mezcla de anticuerpos
 - No respetar las indicaciones del fabricante
- c) De orden físico
 - Centrifugación excesiva en tiempo y/o velocidad

4.6 FLUJOGRAMA DE INFORMACIÓN



OE: Orden de examen; R: Resultados

	Manual de Inmunohematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 7 de 59

Lista de tareas para flujograma de información:

MUESTRA:

- Obtención de muestra de paciente para su posterior análisis

RECEPCIONAR:

- Recibir orden de examen junto con muestra del paciente
- Se registra en la orden quien recepciona y hora de recepción
- Corroborar que la muestra esté en condiciones para su posterior análisis (en tubo correcto, sin hemólisis, sin coágulos y en cantidad correcta, si existen dudas consultar con Tecnólogo Médico)
- Corroborar que datos de la orden coincidan con los datos del tubo (si no es así, devolver orden al servicio solicitante y retener muestra en UMT y solicitar nueva muestra)
- Registrar datos básicos del paciente en software de la unidad, solicitar examen e imprimir etiquetas (2) con código de barra único
- Pegar etiquetas impresas, una en orden de examen y la segunda en tubo con muestra

PREPARAR I:


- Corroborar que datos de la orden coincidan con la muestra (ver etiquetas adheridas), si no es así, devolver a sección ventanilla para su investigación y posterior corrección
- Centrifugar muestra
- Registrar en libro correspondiente
- Identificación de tubos para estudio de la muestra
- Agregar antisueros y glóbulos A y B a cada tubo
- Dejar sobre mesón de trabajo muestra preparada en conjunto con orden

PREPARAR II:

- Agregar a los tubos ya identificados, con sus respectivos antisueros y glóbulos A y B muestra del paciente

ANALIZAR:

- Agitar, visualizar e interpretar resultados
- Los resultados deben registrarse en libro correspondiente y también en software de la unidad
- Impresión de resultados


	Manual de Inmunohematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 8 de 59

V.- Registros:

Los resultados son registrados en **Libro de Sala** (pacientes hospitalizados) o en **Libro de Policlínico** (pacientes tratados en los diferentes policlínicos del Hospital): ambos libros están ubicados en estante colgante de sección Inmunohematología.

Además, los resultados deben ser registrados en el sistema computacional, **e-Delphyn**.

La forma correcta de realizar los registros se presentan en el Anexo N°3: Registro de resultados para clasificación ABO-RhD, Test de Antiglobulina humana y Detección de anticuerpos irregulares.

	Manual de Inmunoematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 9 de 59

CLASIFICACIÓN ABO Y RH D EN LÁMINA

I.- Objetivo:

La clasificación ABO y Rh D en lámina, se usa sólo para Recontrol, permite la determinación de los grupos sanguíneos mediante la detección de los antígenos A y B presentes en la membrana del eritrocito, pudiendo así clasificar donantes y receptores en los cuatro grupos sanguíneos existentes (A, B, AB y O). Permite también la detección de los antígenos del tipo Rh D en la membrana de los eritrocitos.

Este procedimiento es realizado cuando llegan **segundas muestras de un paciente, Recontrolar unidades de glóbulos rojos y Recontrol en pacientes que se transfundirán.**

II.- Alcance:

Médico solicitante.

Funcionarios de la Unidad de Medicina Transfusional, como Médico jefe, Tecnólogo Médico Supervisor, Tecnólogos Médicos y Técnicos Paramédicos.

Todo paciente susceptible de recibir una transfusión de hemocomponentes.

III.- Encargado de ejecución y responsabilidad:

Tecnólogo médico: La clasificación ABO y RhD es responsabilidad del Tecnólogo Médico de turno en la sección correspondiente.

Técnico Paramédico: preparar material e insumos necesarios para que Tecnólogo Médico realice análisis de reclasificación ABO y RhD.


IV.- Desarrollo y Descripción del procedimiento:

4.1 Desarrollo

4.1.1 Reunir los siguientes materiales: muestra de sangre, sueros anti A, anti B y anti D, pipetas plásticas (si corresponde), lámina de vidrio con separaciones, mezcladores, fuente de luz, centrífuga DiaCent-12 DiaMed.

4.1.2 Obtener muestra de sangre del paciente a clasificar en tubo sin anticoagulante, 5 ml.

4.1.3 Identificar muestra según anexo N°1 Identificación de muestras.

	Manual de Inmunoematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 10 de 59

4.1.4 Resuspender glóbulos rojos de la muestra en su propio suero a una concentración del 3-4%.

4.1.5 Agregar 1 gotas de la resuspensión a 4 separaciones diferente de la lámina de vidrio.

4.1.6 Agregar 2 gotas de suero anti A a la primera separación que contiene la suspensión.

4.1.7 Agregar 2 gotas de suero anti B a la segunda separación que contiene la suspensión.

4.1.8 Agregar 2 gotas de suero anti AB a la tercera separación que contiene la suspensión.

4.1.9 Agregar 2 gotas de suero anti D a la cuarta separación que contiene la suspensión.

4.1.10 Mezclar con los mezcladores en forma circular suavemente por 5 segundos cada separación.

4.1.11 Agitar la lámina con movimientos circulares hasta que se forme la aglutinación.

4.1.12 Determinar la presencia de aglutinación en la fuente de luz. Ver anexo N°6 Manejo de fuente de luz.

4.1.13 Interpretar los resultados.

4.2 Descripción del procedimiento

4.2.1 El procedimiento se realiza en la sección de inmunoematología y en la sección de despacho de transfusiones de la Unidad de Medicina Transfusional, en donde se re-controlan la unidades de Glóbulos Rojos leucorreducidos que serán transfundidos.

4.2.2 El procedimiento debe ser realizado por el tecnólogo médico encargado de la sección correspondiente.

4.2.3 El procedimiento tarda aproximadamente 5 minutos por muestra.

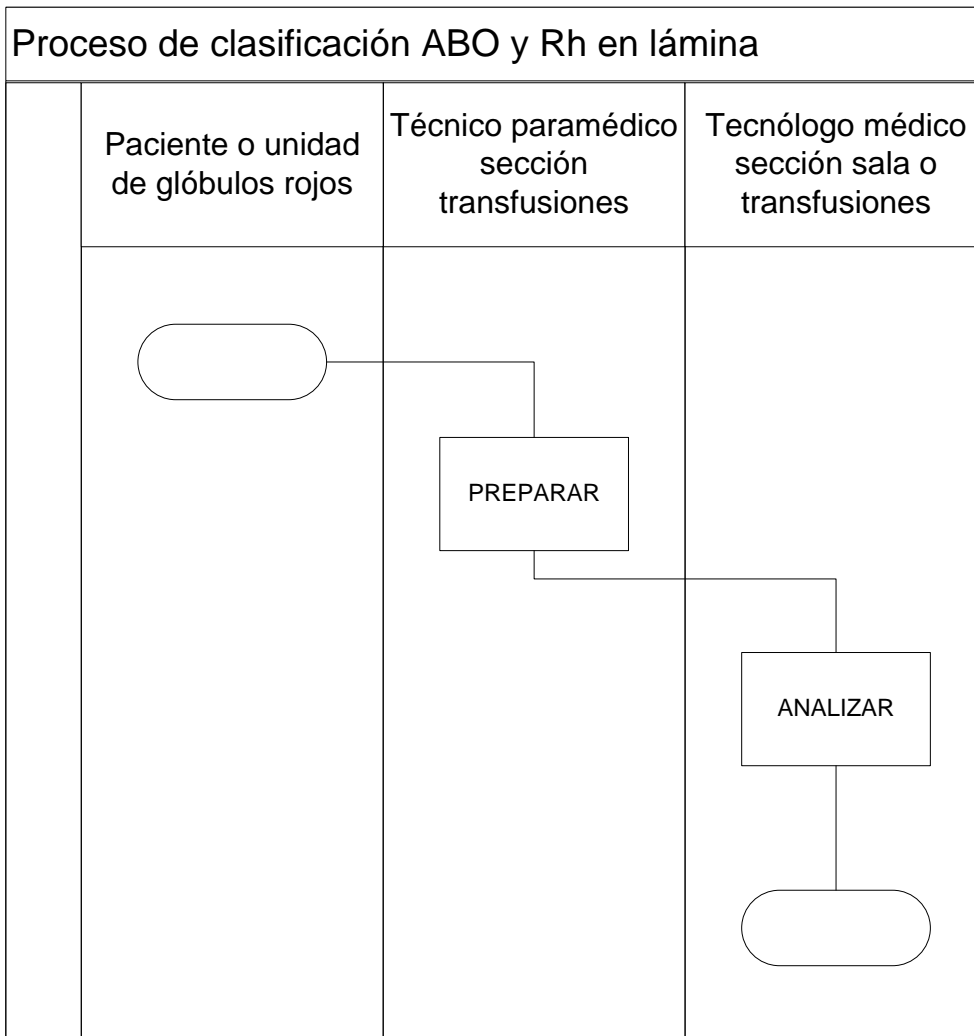
4.3 DOCUMENTOS RELACIONADOS


4.3.1 Instructivo de clasificación ABO y Rh D en lámina

4.3.1.1 Obtener muestra de sangre del paciente.

- 4.3.1.2 Identificar muestra.
- 4.3.1.3 Resuspender glóbulos rojos de la muestra en su propio suero.
- 4.3.1.4 Agregar 1 gotas de la resuspensión a 4 separaciones diferente de la lámina.
- 4.3.1.5 Agregar 2 gotas de antisuero correspondiente.
- 4.3.1.6 Mezclar con mezcladores.
- 4.3.1.7 Agitar la lámina.
- 4.3.1.8 Leer e interpretar los resultados

4.4 FLUJOGRAMA DE INFORMACIÓN



	Manual de Inmunohematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 12 de 59

Lista de tareas flujograma de información:

PREPARAR:

- Preparar en mesón de trabajo insumos necesarios para el análisis

ANALIZAR:


- Dispensar muestra de paciente
- Dispensar antisueros
- Mezclar
- Agitar lámina
- Interpretar resultados

V.- Registros

Los resultados son registrados en **Libro de Sala** (pacientes hospitalizados) o en **Libro de Policlínico** (pacientes tratados en los diferentes policlínicos del Hospital) o **Libro Recién Nacidos** (pacientes recién nacidos): estos libros están ubicados en estante colgante de sección Inmunohematología.

Además, los resultados deben ser registrados en el sistema computacional, **e-Delphyn**.

La forma correcta de realizar los registros se presentan en el Anexo N°3: Registro de resultados para clasificación ABO-RhD, Test de Antiglobulina humana y Detección de anticuerpos irregulares.

	Manual de Inmunohematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 13 de 59

CLASIFICACIÓN ABO - RHD Y TEST DE ANTIGLOBULINA DIRECTO (COOMBS DIRECTO) EN GEL PARA RECIÉN NACIDOS

I.- Objetivo:

La clasificación ABO y Rh D en GEL, permite la clasificación de los grupos sanguíneos mediante la detección de los antígenos A y B presentes en la membrana del eritrocito, pudiendo clasificar donantes y receptores en los cuatro grupos sanguíneos existentes (A, B, AB y O). Además determina la presencia de anticuerpos naturales (anti A y anti B). Permite también la detección de los antígenos del tipo Rh D en la membrana de los eritrocitos.

El Test de Antiglobulina directo permite identificar el recubrimiento de membrana de los eritrocitos por anticuerpos del tipo IgG o fracciones de complemento que ocurre in vivo: a este proceso se llama sensibilización in vivo.

II.- Alcance:

Médico solicitante.

Funcionarios de la Unidad de Medicina Transfusional, como Médico jefe, Tecnólogo Médico Supervisor, Tecnólogos Médicos y Técnicos Paramédicos. Todo paciente susceptible de recibir una transfusión de hemocomponentes.

III.- Encargado de la ejecución y su responsabilidad:

Tecnólogo médico: La clasificación de grupo sanguíneo ABO - RhD y Test de Antiglobulina directo es responsabilidad del Tecnólogo Médico de turno en sección de Inmunohematología.

Técnico Paramédico: preparar material e insumos necesarios para que Tecnólogo Médico realice análisis de clasificación de grupo sanguíneo y Rh.


IV.- Desarrollo:

4.1 Desarrollo

4.1.1 Reunir los siguientes materiales: muestra de 2 ml de sangre sin anticoagulante, micropipetas, puntas DG steppers, centrífuga DG Spin, gradilla, lápiz marcador, tarjetas con columnas de gel, centrifuga Rotofix 32A.

4.1.2 Obtener muestra de sangre del paciente a estudiar en tubo sin anticoagulante.

4.1.3 Identificar muestra. Ver anexo N°1 Identificación de muestras.

	Manual de Inmunohematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 14 de 59

4.1.4 Separar 2 gotas de sangre en un tubo khan agregar PBS y lavar 4 veces a una Centrifugación 1 minuto en la centrifuga Rotofix 32A. Ver anexo N°2 Manejo de la centrifuga Rotofix 32A.

4.1.5 Marcar el GEL de Recién Nacido con número y apellidos del paciente. **El GEL debe mantenerse a temperatura ambiente para su uso.**

4.1.6 Diluir los glóbulos rojos del tubo Khan con solución DG sol, hasta una concentración del 1%.

4.1.7 Agregar 50 µl de la mezcla anterior a los 8 microtubos de la tarjeta de gel.

4.1.8 Centrifugar para lectura por 9 minutos a 1500 rpm en la centrífuga DG Spin. Ver anexo N°4: Manejo de la centrífuga DG Spin.

4.1.11 Determinar la presencia o ausencia de aglutinación en la fuente de luz.

4.1.12 Si existe aglutinación informar en cruces dependiendo de la intensidad de la aglutinación.

4.1.13 Registrar los resultados.

4.2 Descripción del procedimiento:

4.2.1 El procedimiento se realiza en la sección de Inmunohematología de la Unidad de Medicina Transfusional.

4.2.2 El procedimiento debe ser realizado por el Tecnólogo Médico encargado de la sección de Inmunohematología.

4.2.3 El procedimiento tarda aproximadamente 15 minutos por muestra.

4.3 Documentos relacionados:

4.3.1 Instructivo de clasificación de grupo sanguíneo ABO - RhD y Test de Antiglobulina directo

4.3.1.1 Obtener muestra del paciente estudiar.

4.3.1.2 Identificar muestra.

4.3.1.3 Centrifugar muestra.

4.3.1.4 Resuspender glóbulos rojos de la muestra en su propio suero.

- 4.3.1.5 Agregar 1 gota de suspensión en tubo Khan.
- 4.3.1.6 Lavar 4 veces.
- 4.3.1.7 Resuspender con DG sol al 1%.
- 4.3.1.7 Agregar 50 µl gotas suspensión a pocillos de gel.
- 4.3.1.8 Centrifugar para lectura.
- 4.3.1.9 Leer.
- 4.3.1.10 Si existe aglutinación informar en cruces.

4.4 Interpretación

Sistema ABO

Microtubo A	Microtubo B	Microtubo AB	Microtubo Ctl	Grupo ABO
0	0	0	0	0
+	0	+	0	A
0	+	0	0	B
+	+	+	0	AB

Sistema Rh (Antígeno D)

Microtubo Dvi-	Microtubo Dvi+	Microtubo Ctl	Interpretación
+	+	0	D positivo
0	0	0	D negativo *
0	+	0	D débil o parcial
+	0	0	AB

Si microtubo Dvi y Dvi+ resultan negativos se debe realizar la investigación RhD variante en GEL.

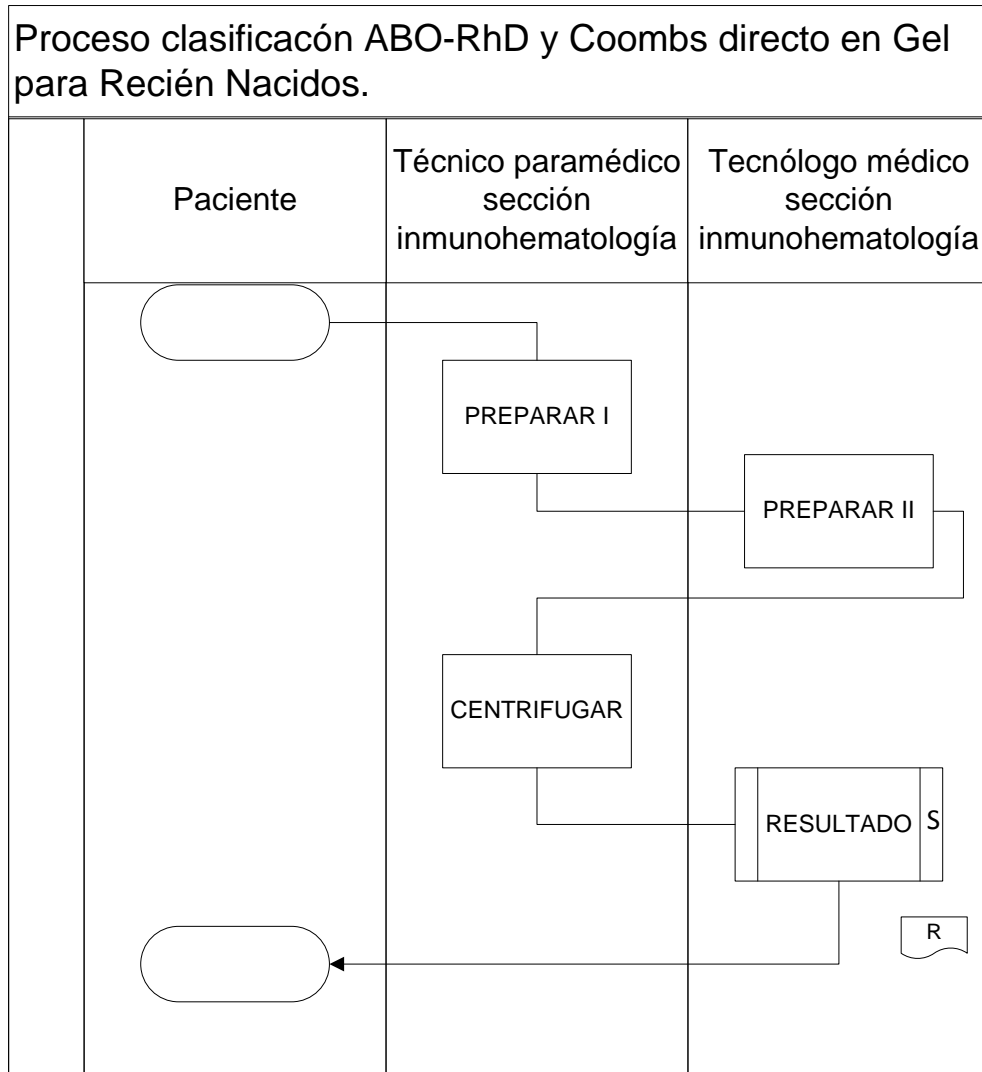
Test de Antiglobulina Directo

Los resultados por sí solos no son un diagnóstico, deben valorarse en conjunto con la información clínica y otros datos del paciente.

El microtubo Ctl debe ser negativo. Si es positivo, invalidar la prueba.

Repetir determinación lavando previamente los hematíes con solución salina fisiológica y preparar de nuevo una suspensión de los hematíes lavados. Si el microtubo Ctl de la repetición es negativo se pueden interpretar los resultados de la prueba, si es positivo invalidar la prueba.

4.5 FLUJOGRAMA DE INFORMACIÓN




R: Resultado

Lista de tareas para flujograma de información:

PREPARAR I:

- Centrifugar muestra
- Identificar muestra
- Agregar muestra de glóbulos rojos al tubo
- Lavar muestra de glóbulos rojos 4 veces con solución PBS.

PREPARAR II:

	Manual de Inmunohematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 17 de 59

- Diluir al 1% con DG sol la muestra
- Agregar suspensión en gel

RESULTADO:


- Leer, interpretar y registrar resultado en software y libro correspondiente
- Imprimir resultado

V.- Registros:

Los resultados son registrados en **Libro de Recién Nacidos** ubicado en estante colgante de sección Inmunohematología.

Además, los resultados deben ser registrados en el sistema computacional, **e-Delphyn**.

La forma correcta de realizar los registros se presentan en el Anexo N°3: Registro de resultados para clasificación ABO-RhD, Test de Antiglobulina humana y Detección de anticuerpos irregulares.

	Manual de Inmunohematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 18 de 59

INVESTIGACIÓN RHD VARIANTE EN GEL (RH COOMBS)

I.- Objetivo:

La investigación de RhD variante permite identificar una variante del antígeno Rh D, que presenta una expresión más débil, que no es identificada por la clasificación ABO y Rh D convencionales.

La técnica es en gel y se realizará **sólo a Recién Nacido** cuya primera lectura del RhD haya sido negativa.

II.- Alcance:

Médico solicitante.

Funcionarios de la Unidad de Medicina Transfusional, como Médico jefe, Tecnólogo Médico Supervisor, Tecnólogos Médicos y Técnicos Paramédicos. Todo paciente susceptible de recibir una transfusión de hemocomponentes.

III.-Encargado de ejecución y responsabilidad:

Tecnólogo médico: La investigación RhD variante, es responsabilidad del Tecnólogo Médico de turno en sección de inmunohematología.

Técnico Paramédico: preparar material e insumos necesarios para que Tecnólogo Médico realice el análisis.

IV.- Desarrollo y Descripción del procedimiento:


4.1 Desarrollo

4.1.1 Reunir los siguientes materiales: muestra de 5 ml de sangre sin anticoagulante, suero anti D, pipetas plásticas, tubos Khan, Centrífuga Rotofix 32 Hettich Zentrifugen, centrífuga DG Spin, gradilla, lápiz marcador, solución DG Gel Sol, tarjetas con columnas de gel, micropipeta, puntas DG steppers.

4.1.2 Identificar muestras de sangre del paciente con resultado negativo para Rh D determinado en la clasificación ABO y Rh D.

4.1.3 Utilizar el tubo marcado como Rh de la clasificación ABO y Rh D.

4.1.4 Agregar 2 gotas de suero anti D al tubo marcado como Rh.

	Manual de Inmunohematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 19 de 59

4.1.5 Centrifugar tubos 15 segundos a 1500 rpm en centrífuga DiaCent-12 DiaMed.

4.1.6 Agitar tubos suavemente hasta desprender el precipitado del fondo del tubo y leer.

4.1.7 Tomar con la pipeta plástica un volumen de glóbulos del tubo piloto y lavar 4 veces la muestra con PBS.

4.1.8 Una vez lavada la muestra y eliminado el sobrenadante, preparar una dilución de los glóbulos rojos del paciente al 1 % con DG Gel Sol, para ello se debe tomar 5 ul de los glóbulos rojos lavados y agregar 500 ul del diluyente DG Gel Sol.

4.1.9 Identificar una columna del gel con el N° del paciente Recién Nacido.

4.1.10 Agregar 50 µl de la dilución al 1% a la columna previamente identificada.

4.1.11 Agregar 25 µl de Antisuero anti D (IgG o IgM+IgG) a la columna.

4.1.12 Incubar a 37 °C por 15 minutos en incubador DG Therm. Ver anexo N°5 Manejo del incubador DG Therm.

4.1.13 Centrifugar para lectura por 9 minutos a 1500 rpm en la centrífuga DG Spin. Ver anexo N°4 Manejo de la centrífuga DG Spin.


4.1.14 Determinar la presencia o ausencia de aglutinación en la fuente de luz. Ver anexo N° 6 Manejo de fuente de luz. Si existe aglutinación el Rh D es positivo y se informa como Rh D positivo débil, de no existir aglutinación se informa como Rh D negativo.

4.1.15 Controlar el resultado realizando test de Coombs directo. Ver procedimiento Test de Coombs directo en gel. El resultado de este debe ser negativo para confirmar el resultado del estudio del Rh D positivo débil.

4.1.16 Si existe aglutinación informar en cruces dependiendo de la intensidad de la aglutinación.

4.1.17 Registrar los resultados.

4.2 Descripción del procedimiento

	Manual de Inmunohematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 20 de 59

4.2.1 El procedimiento se realiza en la sección de Inmunohematología de la Unidad de Medicina Transfusional.

4.2.2 El procedimiento debe ser realizado por el Tecnólogo Médico encargado de la sección de inmunohematología.

4.2.3 El procedimiento tarda aproximadamente 45 minutos por muestra.

4.3 Documentos Relacionados

4.3.1 Instructivo para la investigación RhD Variante en gel (Rh coombs)

4.3.1.1 Identificar muestras de sangre del paciente con resultado negativo para Rh D determinado en la clasificación ABO y Rh D.

4.3.1.2 Utilizar el tubo Rh de la clasificación ABO y Rh D.

4.3.1.3 Agrega 2 gotas de antisuero anti D.

4.3.1.4 Centrifugar y leer.

4.3.1.5 Tomar un volumen de glóbulos rojos del tubo piloto.

4.3.1.6 Lavar 4 veces.

4.3.1.7 Resuspender con DG sol al 1%.

4.3.1.8 Agregar 50 µl de la suspensión al 1% a la columna de gel.

4.3.1.9 Agregar 25 µl de Antisuero anti D a la columna de gel.

4.3.1.10 Incubar a 37 °C por 15 minutos.

4.3.1.10 Centrifugar para lectura.

4.3.1.11 Leer e interpretar los resultados.

4.3.1.12 Realizar test de Coombs directo en gel, si procede.

4.3.1.13 Leer e interpretar los resultados.

4.4 Interpretación:

- Si el resultado del test es Negativo, se puede afirmar que esa persona es Rh D negativo (-).
- Si el resultado es Positivo (aglutinación) existen dos posibilidades:
 1. La persona tiene en sus glóbulos rojos un Antígeno D débil
 2. Los glóbulos rojos presentan autoanticuerpos, ya sea por auto Ac tipo IgG, fracciones del complemento o además por interacción con el medio en que está preparado el antisuero usado.

Para descartar esta última posibilidad se prosigue la investigación efectuando un test de Coombs Directo a los glóbulos rojos en estudio.

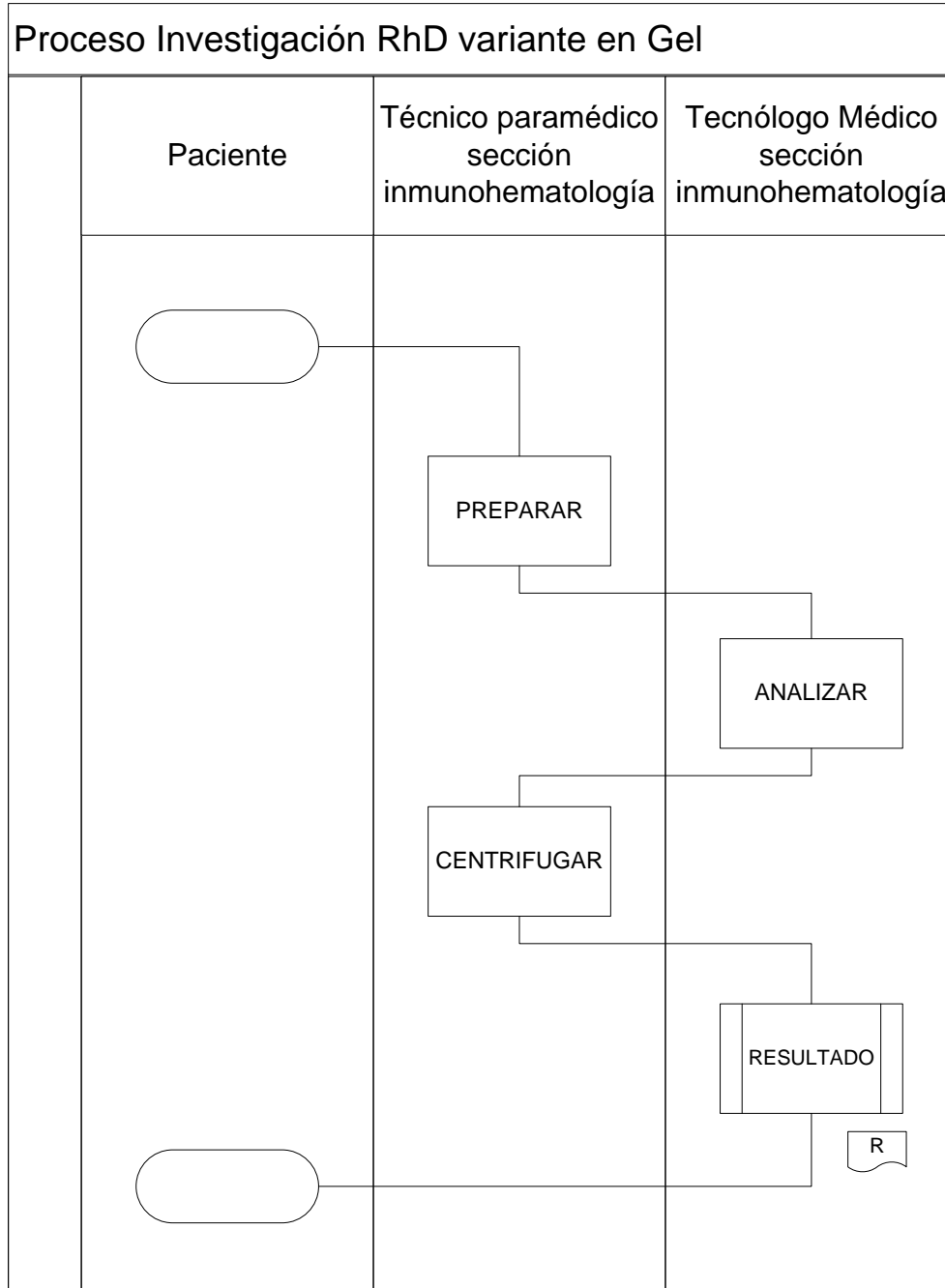
Si el test de Coombs Directo es negativo, se puede concluir que la persona es Rh D positivo débil.

Si el test de Coombs Directo es positivo, no se puede llegar a conclusiones apropiadas y el Rh de esa persona no puede ser diagnosticado.


Resumen de Resultados de la investigación

Suero anti-D	Técnica Du	Test de Coombs Directo	Informe
4+	-	-	Rh D positivo
0	0	-	Rh D negativo
0	4+	0	Rh D positivo débil
0	4+	4+	Rh D indeterminado

4.4 FLUJOGRAMA DE INFORMACIÓN



R: Resultado

	Manual de Inmunohematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 23 de 59

Lista de tareas para el flujograma de información:

PREPARAR:

- Lavar cuatro veces la muestra del paciente a estudiar
- Dejar mesón de trabajo preparado con insumos para análisis

ANALIZAR:

- Diluir glóbulos rojos al 1%
- Identificar columna del gel con la que se trabajará
- Agregar 50 microlitros de dilución al 1%
- Agregar 25 microlitros de suero anti D
- Incubar 15 minutos a 37°C

RESULTADO:

- Lectura e interpretación de resultado
- Si el resultado es POSITIVO, realizar Coombs directo a la muestra, interpretar y registrar resultado en software y libro correspondiente
- Si el resultado es NEGATIVO, interpretar y registrar resultado en software y libro correspondiente


V.- Registros:

Los resultados son registrados en **Libro de Recién Nacidos** ubicado en estante colgante de sección Inmunohematología.

Además, los resultados deben ser registrados en el sistema computacional, **e-Delphyn**.

La forma correcta de realizar los registros se presentan en el Anexo N°3: Registro de resultados para clasificación ABO-RhD, Test de Antiglobulina humana y Detección de anticuerpos irregulares.

Realizar la inspección del procedimiento en el anexo N°13 Pauta de cotejo de investigación RhD Variante en gel.

	Manual de Inmunohematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 24 de 59

TEST DE ANTIGLOBULINA DIRECTO (COOMBS DIRECTO) EN GEL

I.- Objetivo:

El test de Coombs directo permite identificar el recubrimiento de membrana de los eritrocitos por anticuerpos del tipo IgG o fracciones de complemento que ocurre in vivo: a este proceso se llama sensibilización in vivo.

II.- Alcance:

Médico solicitante.

Funcionarios de la Unidad de Medicina Transfusional, como Médico jefe, Tecnólogo Médico Supervisor, Tecnólogos Médicos y Técnicos Paramédicos. Todo paciente susceptible de recibir una transfusión de hemocomponentes.

III.-Encargado de ejecución y responsabilidad:

Tecnólogo médico: La realización del test de Coombs directo, es responsabilidad del Tecnólogo Médico de turno en sección de inmunohematología.

Técnico Paramédico: preparar material e insumos necesarios para que Tecnólogo Médico realice el análisis.

IV.- Desarrollo y Descripción del procedimiento

4.1 Desarrollo


4.1.1 Reunir los siguientes materiales: muestra de 5 ml de sangre sin anticoagulante, micropipetas, puntas DG steppers, centrífuga DG Spin, gradilla, lápiz marcador, tubos Khan, solución DG sol, tarjetas con columnas de gel, centrífuga Rotofix 32 A.

4.1.2 Obtener muestra de sangre del paciente a clasificar en tubo sin anticoagulante.

4.1.3 Identificar muestra. Ver anexo N°1 Identificación de muestras.

4.1.4 Centrifugar muestra a 4000 rpm por 5 minutos en la centrífuga Rotofix 32 A. Ver anexo N°5 Manejo de la centrífuga Rotofix 32 A.

4.1.5 Resuspender glóbulos rojos de la muestra en su propio suero.

	Manual de Inmunohematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 25 de 59

4.1.6 Agregar 1 gota de suspensión realizada en el punto anterior en un tubo Khan previamente marcado para su identificación.

4.1.7 Lavar 4 veces el tubo con PBS.

4.1.8 Diluir los glóbulos rojos del tubo Khan con solución DG sol, hasta una concentración del 1%.

4.1.9 Agregar 50 µl de la mezcla anterior a microtubo de la tarjeta de gel.

4.1.10 Centrifugar para lectura por 9 minutos a 1500 rpm en la centrífuga DG Spin. Ver anexo N°4: Manejo de la centrífuga DG Spin.

4.1.11 Determinar la presencia o ausencia de aglutinación en la fuente de luz.

4.1.12 Si existe aglutinación informar en cruces dependiendo de la intensidad de la aglutinación.

4.2 Descripción del procedimiento:

4.2.1 El procedimiento se realiza en la sección de Inmunohematología de la Unidad de Medicina Transfusional.

4.2.2 El procedimiento debe ser realizado por el tecnólogo médico encargado de la sección de Inmunohematología.

4.2.3 El procedimiento tarda aproximadamente 30 minutos por muestra.

4.3 Documentos relacionados:

4.3.1 Instructivo del test de Coombs directo en gel

4.3.1.1 Obtener muestra del paciente estudiar.

4.3.1.2 Identificar muestra.

4.3.1.3 Centrifugar muestra.

4.3.1.4 Resuspender glóbulos rojos de la muestra en su propio suero.

4.3.1.5 Agregar 1 gota de suspensión en tubo Khan.

4.3.1.6 Lavar 4 veces.

4.3.1.7 Resuspender con DG sol al 1%.

4.3.1.7 Agregar 50 µl gotas suspensión a pocillos de gel.

4.3.1.8 Centrifugar para lectura.

4.3.1.9 Leer.

4.3.1.10 Si existe aglutinación informar en cruces.

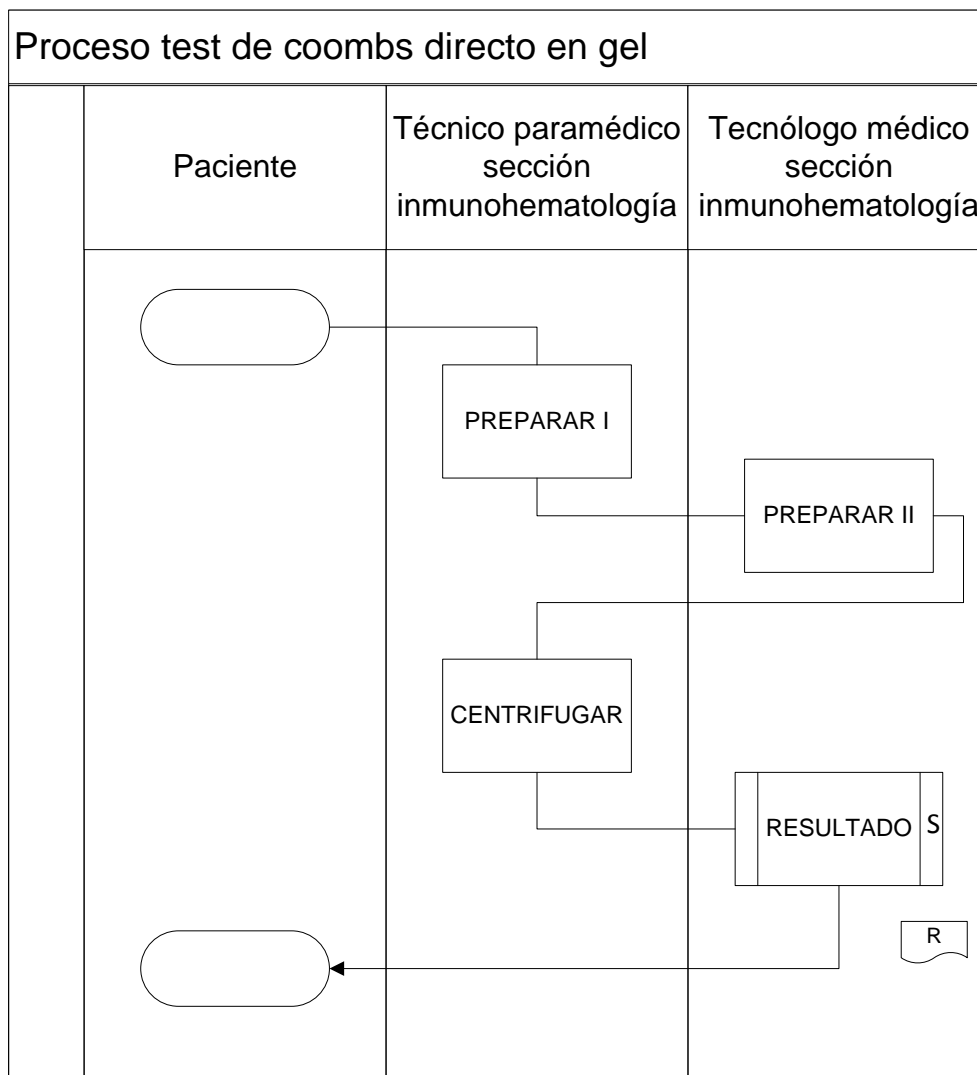
4.4 Interpretación:

La aglutinación de los eritrocitos indica que sus membranas han sido recubiertas por anticuerpos IgG o fracciones del complemento "in vivo"


Las aplicaciones son:

- Diagnóstico de Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido
- Diagnóstico de Enfermedad Hemolítica autoinmune
- Investigación de Reacción hemolítica transfusional

4.5 FLUJOGRAMA DE INFORMACIÓN



R: Resultado

	Manual de Inmunohematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 27 de 59

Lista de tareas para flujograma de información:

PREPARAR I:

- Centrifugar muestra
- Identificar muestra
- Agregar muestra de glóbulos rojos al tubo
- Lavar muestra de glóbulos rojos 4 veces con solución PBS.

PREPARAR II:

- Diluir al 1% con DG sol la muestra
- Agregar suspensión en gel

RESULTADO:

- Leer, interpretar y registrar resultado en software y libro correspondiente
- Imprimir resultado


V.- Registros:

Los resultados son registrados en **Libro de Sala** (pacientes hospitalizados, mayores de 6 meses), **Libro de Recién Nacidos** (pacientes hospitalizados menores de 6 meses) o en **Libro de Policlínico** (pacientes tratados en los diferentes policlínicos del Hospital): estos libros están ubicados en estante colgante de sección Inmunohematología.

Además, los resultados deben ser registrados en el sistema computacional, **e-Delphyn**.

La forma correcta de realizar los registros se presentan en el Anexo N°3: Registro de resultados para clasificación ABO-RhD, Test de Antiglobulina humana y Detección de anticuerpos irregulares.

Realizar la inspección del procedimiento en el anexo N°14 Pauta de cotejo del test de Coombs directo en gel.

	Manual de Inmunoematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 28 de 59

DETECCION DE ANTICUERPOS IRREGULARES (TEST DE COOMBS INDIRECTO EN GEL)

I.- Objetivo:

El test de Coombs indirecto permite identificar anticuerpos presentes en el suero o plasma de paciente, estos anticuerpos pueden interferir en las transfusiones de sangre.

II.- Alcance:

Médico solicitante.

Funcionarios de la Unidad de Medicina Transfusional, como Médico jefe, Tecnólogo Médico Supervisor, Tecnólogos Médicos y Técnicos Paramédicos. Todo paciente susceptible de recibir una transfusión de hemocomponentes.

III.-Encargado de ejecución y responsabilidad:

Tecnólogo médico: La realización del test de Coombs indirecto, es responsabilidad del Tecnólogo Médico de turno en sección de inmunoematología.

Técnico Paramédico: preparar material e insumos necesarios para que Tecnólogo Médico realice el análisis.

IV.- Desarrollo y Descripción del procedimiento:

4.1 Desarrollo


4.1.1 Reunir los siguientes materiales: muestra de 5 ml de sangre sin anticoagulante, micropipetas, puntas DG steppers, centrífuga DG Spin, gradilla, lápiz marcador, tarjetas con columnas de gel, células del panel I y II Serascan Diana 2(glóbulos rojos con antígenos conocidos), centrífuga Rotofix 32A.

4.1.2 Obtener muestra de sangre del paciente a estudiar en tubo sin anticoagulante.

4.1.3 Identificar muestra. Ver anexo N°1 Identificación de muestras.

4.1.4 Centrifugar muestra a 4000 rpm por 5 minutos en la centrífuga Rotofix 32A. Ver anexo N°2 Manejo de la centrífuga Rotofix 32A.

4.1.5 Marcar 2 columnas del gel como I y II.

	Manual de Inmunohematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 29 de 59

- 4.1.6 Agregar 50 µl de células del panel I a la columna marcada como I.
- 4.1.7 Agregar 50 µl de células del panel II a la columna marcado como II.
- 4.1.8 Agregar 25 µl de suero de paciente a las columnas marcadas como I y II.
- 4.1.9 Incubar a 37 °C por 15 minutos en el incubador DG Therm. Ver anexo N°5: Manejo del incubador DG Therm.
- 4.1.10 Centrifugar para lectura por 9 minutos a 1500 rpm en la centrífuga DG Spin. Ver anexo N°4: Manejo de la centrífuga DG Spin.
- 4.1.11 Determinar la presencia o ausencia de aglutinación en la fuente de luz.
- 4.1.12 Si existe aglutinación informar en cruces dependiendo de la intensidad de la aglutinación.
- 4.1.13 Registrar los resultados.

4.2 Descripción del procedimiento

- 4.2.1 El procedimiento se realiza en la sección de Inmunohematología y despacho de transfusiones del banco de sangre.
- 4.2.2 El procedimiento debe ser realizado por el tecnólogo médico encargado de la sección de Inmunohematología.
- 4.2.3 El procedimiento tarda aproximadamente 40 minutos por muestra.

4.3 Documentos relacionados:

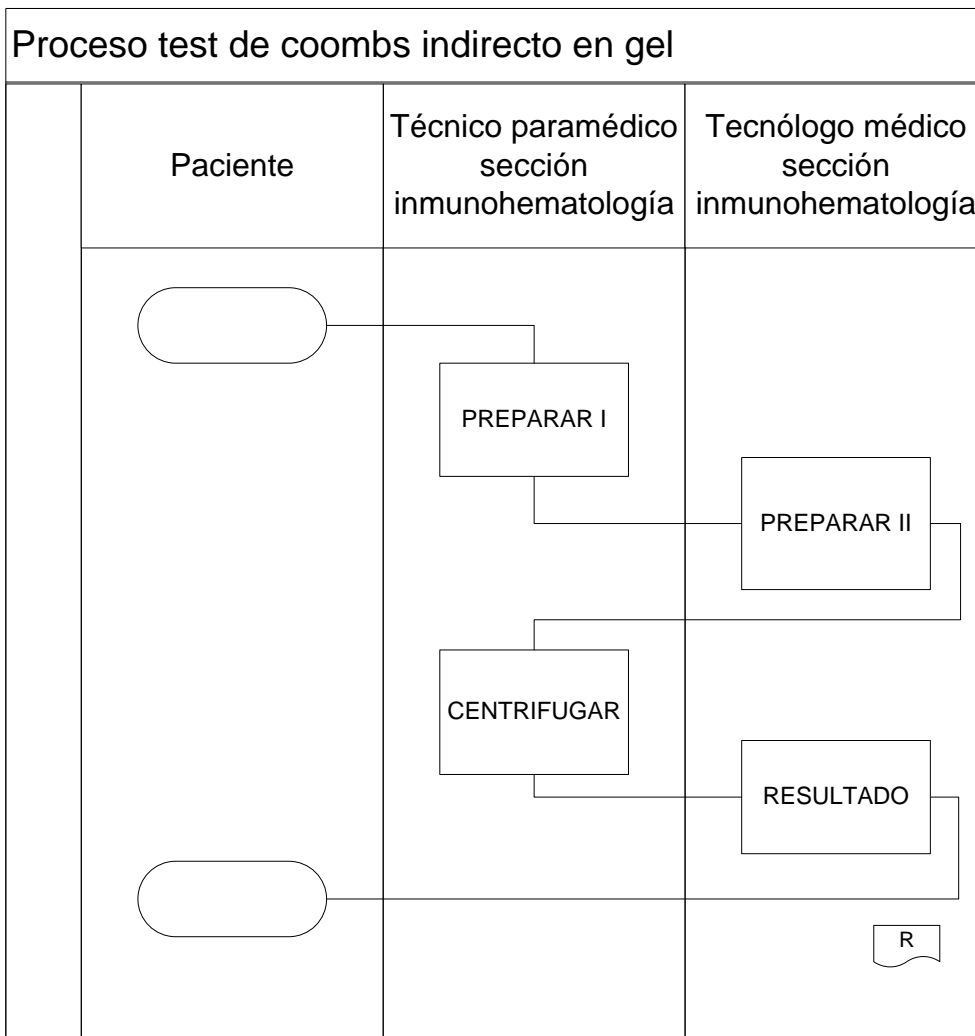
4.3.1 Instructivo del test de Coombs indirecto en gel

- 4.3.1.1 Obtener muestra de sangre del paciente a estudiar.
- 4.3.1.2 Identificar muestra.
- 4.3.1.3 Centrifugar muestra.
- 4.3.1.4 Marcar 2 columnas como I y II.
- 4.3.1.5 Agregar 50 µl de células del panel I a la columna I.
- 4.3.1.6 agregar 50 µl de células del panel II a la columna II.
- 4.3.1.7 Agregar 25 µl de suero de paciente a las columnas I y II.
- 4.3.1.8 Incubar a 37 °C por 15 minutos.
- 4.3.1.9 Centrifugar para lectura.
- 4.3.1.10 Leer.
- 4.3.1.11 Registrar los resultados.


4.4 Interpretación:

- Si existe aglutinación en el punto 4.1.11 significa que hay en el suero del paciente un anticuerpo de tipo IgG, o fracciones del complemento.
- La ausencia de aglutinación indica que en el suero del paciente no hay Acs.

4.5 FLUJOGRAMA DE INFORMACIÓN



R: Resultado

	Manual de Inmunohematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 31 de 59

Lista de tareas para flujograma de información:

PREPARAR I:

- Centrifugación de la muestra del paciente a estudiar
- Identificación de tubo

PREPARAR II:

- Agregar muestra paciente
- Incubar

RESULTADO:


- Lectura e interpretación del resultado, con posterior registro en software y libro correspondiente
- Imprimir resultado

V.- Registros:

Los resultados son registrados en **Libro de Sala** (pacientes hospitalizados, mayores de 6 meses), **Libro de Recién Nacidos** (pacientes hospitalizados menores de 6 meses) o en **Libro de Policlínico** (pacientes tratados en los diferentes policlínicos del Hospital): estos libros están ubicados en estante colgante de sección Inmunohematología.

Además, los resultados deben ser registrados en el sistema computacional, **e-Delphyn**.

La forma correcta de realizar los registros se presentan en el Anexo N°3: Registro de resultados para clasificación ABO-RhD, Test de Antiglobulina humana y Detección de anticuerpos irregulares.

	Manual de Inmunoematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 32 de 59

ESTUDIO DE MUESTRAS COOMBS DIRECTO POSITIVO EN GEL PARA PACIENTES DE POLICLINICO ONCOLOGIA.

I.- Objetivo:

Estudio de muestras Coombs Directo positivo en técnica en Gel permite diferenciar hematíes sensibilizados "in vivo" por inmunoglobulinas de tipo IgG o la fracción C3d del complemento.

Este estudio se realizará sólo a pacientes del **Policlínico de Oncología** cuyo Coombs directo esté positivo.

II.- Alcance:

Médico solicitante.

Funcionarios de la Unidad de Medicina Transfusional, como Médico jefe, Tecnólogo Médico Supervisor, Tecnólogos Médicos y Técnicos Paramédicos.

Todo paciente susceptible de recibir una transfusión de hemocomponentes.

III.-Encargado de ejecución y responsabilidad:

Tecnólogo médico: La realización del estudio de muestras de Coombs Directo Positivo, es responsabilidad del Tecnólogo Médico de turno en sección de inmunoematología.

Técnico Paramédico: preparar material e insumos necesarios para que Tecnólogo Médico realice el análisis.

IV.- Desarrollo y Descripción del procedimiento


4.1 Desarrollo

4.1.1 Reunir los siguientes materiales: muestra de 5 ml de sangre sin anticoagulante, micropipetas, puntas DG steppers, centrífuga DG Spin, gradilla, lápiz marcador, tubos Khan, solución DG sol, tarjetas con columnas de gel, centrifuga Rotofix 32 A.

4.1.2 Obtener muestra de sangre del paciente a clasificar en tubo sin anticoagulante.

4.1.3 Identificar muestra. Ver anexo N°1 Identificación de muestras.

4.1.4 Centrifugar muestra a 4000 rpm por 5 minutos en la centrífuga Rotofix 32 A. Ver anexo N°5 Manejo de la centrifuga Rotofix 32 A.

	Manual de Inmunohematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 33 de 59

4.1.5 Resuspender glóbulos rojos de la muestra en su propio suero.

4.1.6 Agregar 1 gota de suspensión realizada en el punto anterior en un tubo Khan previamente marcado para su identificación.

4.1.7 Lavar 4 veces el tubo con PBS.

4.1.8 Diluir los glóbulos rojos del tubo Khan con solución DG sol, hasta una concentración del 1%.

4.1.9 Agregar 50 µl de la mezcla anterior a los 4 microtubos de la tarjeta de gel.

4.1.10 Centrifugar para lectura por 9 minutos a 1500 rpm en la centrífuga DG Spin. Ver anexo N°4: Manejo de la centrífuga DG Spin.

4.1.11 Determinar la presencia o ausencia de aglutinación en la fuente de luz.

4.1.12 Si existe aglutinación informar en cruces dependiendo de la intensidad de la aglutinación.

4.2 Descripción del procedimiento:

4.2.1 El procedimiento se realiza en la sección de Inmunohematología de la Unidad de Medicina Transfusional.

4.2.2 El procedimiento debe ser realizado por el tecnólogo médico encargado de la sección de Inmunohematología.

4.2.3 El procedimiento tarda aproximadamente 30 minutos por muestra.

4.3 Documentos relacionados:

4.3.1 Instructivo del estudio de muestras de Coombs Directo Positivo en Gel

4.3.1.1 Obtener muestra del paciente estudiar.

4.3.1.2 Identificar muestra.

4.3.1.3 Centrifugar muestra.

4.3.1.4 Resuspender glóbulos rojos de la muestra en su propio suero.

4.3.1.5 Agregar 1 gota de suspensión en tubo Khan.


4.3.1.6 Lavar 4 veces.

4.3.1.7 Resuspender con DG sol al 1%.

4.3.1.7 Agregar 50 µl gotas suspensión a pocillos de gel.

4.3.1.8 Centrifugar para lectura.

4.3.1.9 Leer.

	Manual de Inmunohematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 34 de 59

4.3.1.10 Si existe aglutinación informar en cruces.

4.4 Interpretación:

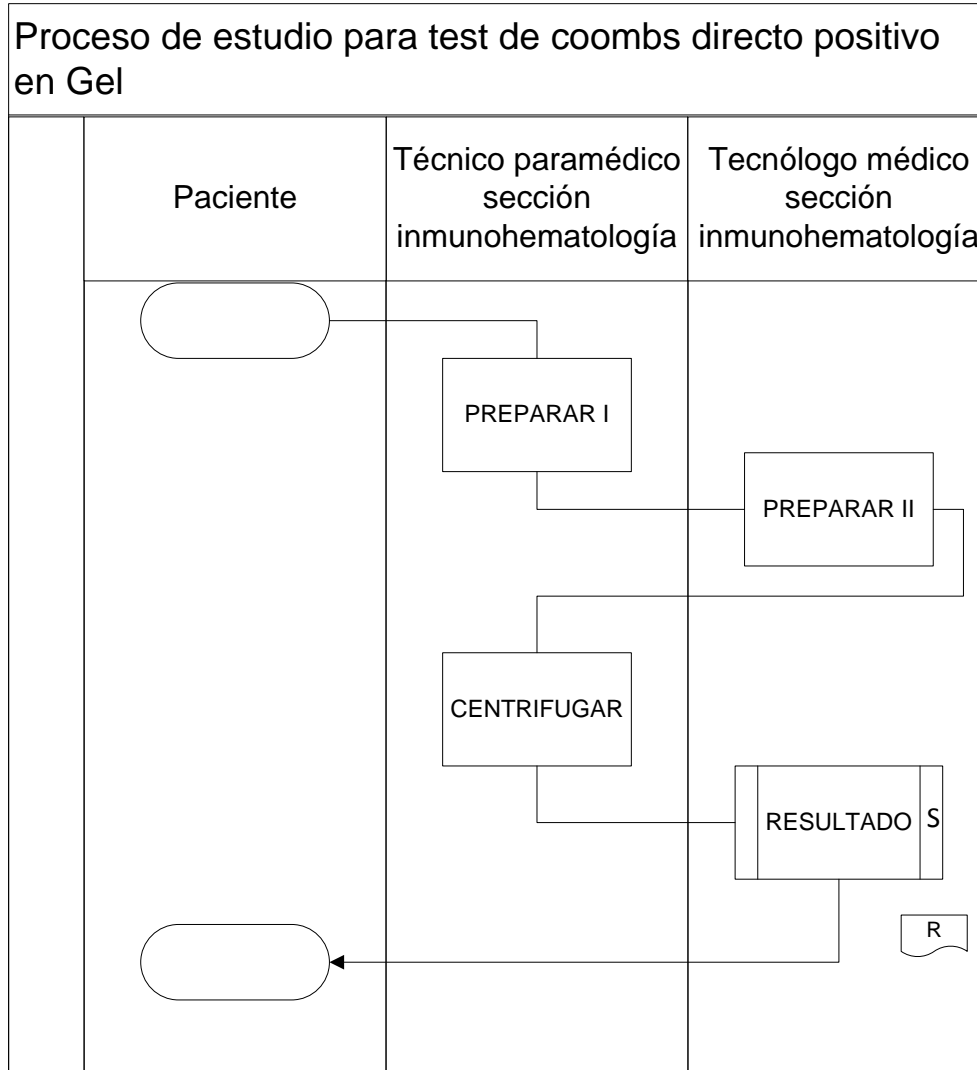
Prueba determinada por el resultado que se obtenga en los microtubos AHG, IgG y C3d.

Notas:

El microtubo Ctl debe ser negativo. Si es positivo, invalidar la prueba. Repetir la determinación lavando previamente los hematíes con solución salina fisiológica y preparar de nuevo la suspensión de los hematíes lavados. Si el microtubo Ctl de la repetición es negativo se pueden interpretar los resultados de la prueba, si es positivo invalidar la prueba.

Los resultados positivos obtenidos en el microtubo AHG deben contrarrestarse con los obtenidos en los microtubos IgG y C3d. Se recomienda revisar/investigar los resultados discrepantes que se obtengan.

4.5 FLUJOGRAMA DE INFORMACIÓN




R: Resultado

Lista de tareas para flujograma de información:

PREPARAR I:

- Centrifugar muestra
- Identificar muestra
- Agregar muestra de glóbulos rojos al tubo
- Lavar muestra de glóbulos rojos 4 veces con solución PBS.

PREPARAR II:

	Manual de Inmunohematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 36 de 59

- Diluir al 1% con DG sol la muestra
- Agregar suspensión en gel

RESULTADO:

- Leer, interpretar y registrar resultado en software y libro correspondiente
- Imprimir resultado


V.- Registros:

Los resultados son registrados en **Libro de Policlínico** ubicado en estante colgante de sección Inmunohematología.

Además, los resultados deben ser registrados en el sistema computacional, **e-Delphyn**.

La forma correcta de realizar los registros se presentan en el Anexo N°3: Registro de resultados para clasificación ABO-RhD, Test de Antiglobulina humana y Detección de anticuerpos irregulares.

Realizar la inspección del procedimiento en el anexo N°16 Pauta de cotejo de Estudio de muestras Coombs Directo positivo

	Manual de Inmunohematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 37 de 59

TITULACIÓN DE ANTICUERPOS IRREGULARES

I.- Objetivo:

La titulación de Anticuerpos irregulares, es una forma semicuantitativa de medir la cantidad de anticuerpos presentes en una muestra en estudio. Los títulos también pueden ayudar a determinar la fuerza relativa del antígeno presente en diferentes tipos de células.

II.- Alcance:

Médico solicitante.

Funcionarios de la Unidad de Medicina Transfusional, como Médico jefe, Tecnólogo Médico Supervisor, Tecnólogos Médicos y Técnicos Paramédicos.

Todo paciente susceptible de recibir una transfusión de hemocomponentes.

III.-Encargado de ejecución y responsabilidad:

Tecnólogo médico: La realización de la técnica, para la titulación de anticuerpos irregulares, es responsabilidad del Tecnólogo Médico de turno en sección de inmunohematología.

Técnico Paramédico: preparar material e insumos necesarios para que Tecnólogo Médico realice el análisis.

IV.- Desarrollo y Descripción del procedimiento:

4.1 Desarrollo

4.1.1 Reunir los siguientes materiales: muestra de 10 ml de sangre en tubo sin anticoagulante, pipetas plásticas, tubos Khan, gradilla, lápiz marcador, células del panel I y II, suero AB inerte, baño a 37°C.

4.1.2 Obtener muestra de sangre del paciente en tubo sin anticoagulante.

4.1.3 Identificar muestra. Ver anexo N°1 Identificación de muestras.

4.1.4 Poner la muestra en el baño a 37°C hasta que coagule completamente.

4.1.5 Marcar 10 tubos Khan como: 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, 1/512, 1/1024.

4.1.6 Agregar 300 µl de suero del paciente al tubo 1/2.

4.1.7 Agregar 300 µl de suero AB inerte al tubo ½. Ver anexo N°3 Preparación de reactivos.

4.1.8 Mezclar con la micropipeta.

4.1.9 Agregar 300 µl de suero AB inerte al resto de los tubos. Ver anexo N°7 Preparación de reactivos.

4.1.10 Tomar 300 µl de la solución del tubo ½ y traspasarlo al tubo ¼.

4.1.11 Mezclar con la micropipeta.

4.1.12 Tomar 300 µl de la solución del tubo 1/4 y traspasarlo al tubo 1/8 y repetir esta acción correlativamente hasta completar la totalidad de los tubos.

4.1.13 Marcar 10 tubos del 1 al 10, al N° 1 marcar SD= sin diluir.

4.1.14 Traspasar 100 µl de cada dilución usando una punta nueva para cada tubo.

4.1.15 Agregar a cada tubo 50 µl de las células del panel.

4.1.16 Incubar a 37°C por 1 horas en incubador.

4.1.17 Lavar 4 veces.

4.1.18 Agregar 2 gotas de suero antiglobulina humana (SAGH).

4.1.19 Centrifugar para lectura.

4.1.20 Agitar suavemente hasta desprender precipitado.

4.1.21 Determinar la presencia o ausencia de aglutinación en la fuente de luz. Ver anexo N°9 Manejo de fuente de luz.


4.1.22 Informar la última dilución en la que se produjo aglutinación.

4.2 Descripción del procedimiento

4.2.1 El procedimiento se realiza en la sección de Inmunoematología de la Unidad de Medicina Transfusional.

4.2.2 El procedimiento debe ser realizado por el tecnólogo médico encargado de la sección de inmunoematología.

4.2.3 El procedimiento tarda aproximadamente 90 minutos por muestra.

	Manual de Inmunoematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 39 de 59

4.3 Documentos relacionados:

4.3.1 Instructivo del test de titulación de Anticuerpos irregulares

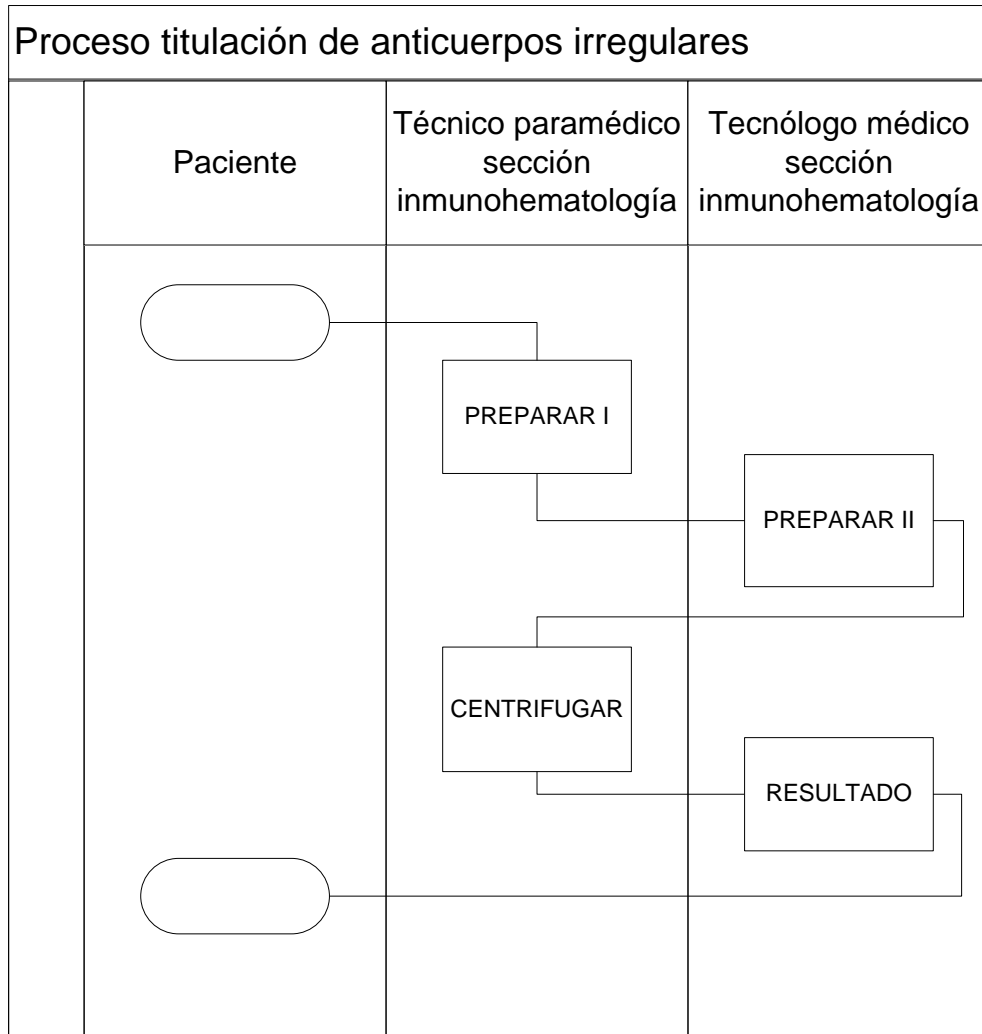
- 4.3.1.1 Obtener muestra de sangre del paciente.
- 4.3.1.2 Identificar muestra.
- 4.3.1.3 Poner la muestra en el baño a 37°C hasta coagule completamente.
- 4.3.1.4 Marcar 10 tubos Khan como: 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, 1/512, 1/1024.
- 4.3.1.5 Agregar 300 µl suero AB inerte a los tubos.
- 4.3.1.6 Tomar 300 µl de la muestra y agregarlo al tubo 1/2.
- 4.3.1.7 Realizar diluciones seriadas al resto de los tubos.
- 4.3.1.8 Agregar a cada tubo 100 µl de cada dilución a los tubos previamente rotulados.
- 4.3.1.9 Agregar 50 µl de las células del panel que corresponda.
- 4.3.1.10 Incubar a 37 °C por 1 hora.
- 4.3.1.11 Centrifugar para lectura.
- 4.3.1.12 Agitar suavemente y leer
- 4.3.1.13 Lavar 4 veces.
- 4.3.1.14 Agregar 2 gotas de suero antiglobulina humana (SAGH).
- 4.3.1.15 Centrifugar para lectura.
- 4.3.1.16 Agitar suavemente hasta desprender precipitado.
- 4.3.1.17 Leer.
- 4.3.1.18 Registrar los resultados
- 4.3.1.19 Informar la última dilución en la que se produjo aglutinación.


4.4 Consideraciones:

Esta técnica da valores aproximados de la concentración de anticuerpos debido a que:

- Sólo determina la cantidad de anticuerpo unido al glóbulo rojo, y no la cantidad total existente en el suero.
- Depende de la afinidad del anticuerpo por el antígeno.
- No se considera el factor de dilución que introduce la adición de la suspensión de glóbulos rojos.
- Sólo cambios de título de 2 tubos o más, se consideran significativos.

4.5 FLUJOGRAMA DE INFORMACIÓN



	Manual de Inmunohematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 41 de 59

Lista de tareas para flujograma de información:

PREPARAR I:

- Identificación de la muestra del paciente a estudiar
- Rotulación de 10 tubos

PREPARAR II:

- Incubar muestra a 37°C
- Realizar dilución seriada
- Agregar dilución y glóbulos rojos del panel de células
- Incubar a 37°C por una hora

RESULTADO:


- Leer, interpretar y registrar resultados en software y libro correspondiente

V.- Registros:

Los resultados son registrados en **Libro de Sala** (pacientes hospitalizados, mayores de 6 meses), **Libro de Recién Nacidos** (pacientes hospitalizados menores de 6 meses) o en **Libro de Policlínico** (pacientes tratados en los diferentes policlínicos del Hospital): estos libros están ubicados en estante colgante de sección Inmunohematología.

Además, los resultados deben ser registrados en el sistema computacional, **e-Delphyn**.

La forma correcta de realizar los registros se presentan en el Anexo N°3: Registro de resultados para clasificación ABO-RhD, Test de Antiglobulina humana y Detección de anticuerpos irregulares.

	Manual de Inmunohematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 42 de 59

REALIZACIÓN DE ESTUDIOS PRE TRANSFUSIONALES

1.- Objetivo: Realizar estudios pre transfusionales de manera de brindar una terapia transfusional segura, oportuna y de calidad, de acuerdo a los criterios de prioridad y stock disponibles a los pacientes que lo requieren.

2.- Definiciones:

GSL: glóbulos rojos leucorreducidos

PFC: plasma fresco congelado

PLQ: plaqueta

CPP: crioprecipitado.

3.- Alcance: Tecnólogo Médico (TM) / Técnico Paramédico (TP)

4.- Modo de Operación:


4.1.- La secretaria o Técnico paramédico que recepciona la solicitud debe corroborar que los datos estén completos y correctos, de lo contrario debe entregar la orden al responsable para la corrección del error.

4.2.- En el caso de que el paciente no esté clasificado y la solicitud sea de GSL la muestra con la solicitud de transfusión será entregada al TP de la sección Inmunohematología; si la solicitud corresponde a PFC, PLQ o CPP, será entregada al TM de Transfusiones.

4.3.- Confirmar en PC el grupo sanguíneo, que debe coincidir con lo anotado en la solicitud de transfusión.

4.4.- Comenzar estudios pre-transfusionales de acuerdo al hemocomponente a transfundir. Si fuera GSL escoger unidad isogrupo. En la sección de Inmunohematología **se realizará la clasificación de grupo sanguíneo, anticuerpos irregulares y pruebas de compatibilidad según corresponda.**

4.5.- Registrar los resultados de clasificación de grupo sanguíneo y anticuerpos irregulares en libro de clasificación y sistema informático, el resultado de las pruebas de compatibilidad se registran en libro de Pruebas de Compatibilidad (servicio, nombre paciente, número de matraz y compatibilidad), en caso de no hallar unidades compatibles, revisar el resultado del test de coombs indirecto, y realizar test de coombs directo, de ser negativo seguir buscando

	Manual de Inmunohematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 43 de 59

hasta encontrar unidades compatibles, de ser positivo informar al médico el resultado de los estudios, para que determine las medidas a seguir.


4.6.- Los hemocomponentes a transfundir deben ser registrados además en sistema informático, si son GSL el TM de Inmunohematología debe hacer las Prueba de compatibilidad y luego la reserva de la(s) unidad(es).

4.7.- Se imprimirán las etiquetas, las que se pegaran en la solicitud de transfusión y unidad a transfundir. Entregar luego la orden de transfusión en la cual se registró el tipo y grupo Rh del hemocomponente a transfundir, número del matraz y resultado de la prueba de compatibilidad, al TM de transfusiones.

4.8.- En los casos de solicitudes de PLQ, PFC, CPP realizar la clasificación de grupo sanguíneo si fuese necesario.

5.- Registros:

- Sistema Computacional
- Libro de Pruebas de Compatibilidad
- Libro de Sala
- Solicitud de Transfusión

	Manual de Inmunoematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 44 de 59

PRUEBAS DE COMPATIBILIDAD (PRUEBAS CRUZADAS) EN GEL

I.- Objetivo:

Las pruebas de compatibilidad permiten determinar si la(s) unidad(es) de Glóbulos Rojos (Leucorreducidos o leucodepletados) del donante, enfrentadas al suero del paciente resultan o no compatibles, de manera tal de brindar una transfusión segura al paciente.

II.- Alcance:

Médico solicitante.

Funcionarios de la Unidad de Medicina Transfusional, como Médico jefe, Tecnólogo Médico Supervisor, Tecnólogos Médicos y Técnicos Paramédicos.

Todo paciente susceptible de recibir una transfusión de hemocomponentes..

III.-Encargado de ejecución y responsabilidad:

Tecnólogo médico: La realización de las pruebas de compatibilidad en gel, es responsabilidad del Tecnólogo Médico de turno en sección de inmunoematología.

Técnico Paramédico: preparar material e insumos necesarios para que Tecnólogo Médico realice el análisis.

IV.- Desarrollo y Descripción del procedimiento:

4.1 Desarrollo

4.1.1 Reunir los siguientes materiales: muestra de 5 ml de sangre sin anticoagulante, micropipetas, puntas DG steppers, centrífuga DG Spin, gradilla, lápiz marcador, tarjetas con columnas de gel, glóbulos rojos del donante, centrífuga Rotofix 32A.

4.1.2 Obtener muestra de sangre del paciente a estudiar en tubo sin anticoagulante.


4.1.3 Identificar muestra. Ver anexo N°1 Identificación de muestras.

4.1.4 Centrifugar muestra a 3500 rpm por 3 minutos en la centrífuga Rotofix 32A. Ver anexo N°2 Manejo de la centrífuga Rotofix 32A.

4.1.5 Marcar las columnas del gel con los números de matraz del donante a cruzar.

4.1.6 Realizar una dilución de los glóbulos rojos del donante al 1% con DG Gel Sol, tubos que han sido previamente rotulados.

4.1.7 Agregar 50 µl de la dilución de glóbulos rojos del punto 3.1.6 a la columna.

	Manual de Inmunoematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 45 de 59

4.1.8 Agregar 25 µl de suero de paciente a las columnas marcadas con el número de matraz del donante.

4.1.9 Incubar a 37 °C por 15 minutos en la incubador DG Therm. Ver anexo N°5: Manejo del incubador DG Therm.

4.1.10 Centrifugar para lectura por 9 minutos a 1500 rpm en la centrífuga DG Spin. Ver anexo N°4: Manejo de la centrífuga DG Spin.

4.1.11 Determinar presencia o ausencia de aglutinación en la fuente de luz.

4.1.16 Si existe aglutinación, informar en cruces dependiendo de la intensidad de la aglutinación.

4.1.17 Registrar los resultados.

4.2 Descripción del procedimiento

4.2.1 El procedimiento se realiza en la sección de Inmunoematología de la Unidad de Medicina Transfusional.

4.2.2 El procedimiento debe ser realizado por el tecnólogo médico encargado de la sección de Inmunoematología.

4.2.3 El procedimiento tarda aproximadamente 45 minutos por muestra.

4.3.- Documentos relacionados:

4.3.1 Instructivo del test de Coombs indirecto en gel

4.3.1.1 Obtener muestra de sangre del paciente a estudiar.

4.3.1.2 Identificar muestra.

4.3.1.3 Centrifugar muestra.

4.3.1.4 Marcar las columnas con el número de matraz.

4.3.1.5 Preparar una dilución al 1 % de los glóbulos rojos del donante.

4.3.1.6 Agregar 50 µl de la dilución mencionada en el punto 4.1.5.

4.3.1.7 Agregar 25 µl de suero de paciente a las columnas.

4.3.1.8 Incubar a 37 °C por 15 minutos.

4.3.1.9 Centrifugar para lectura.

4.3.1.10 Leer.

4.3.1.11 Registrar los resultados.

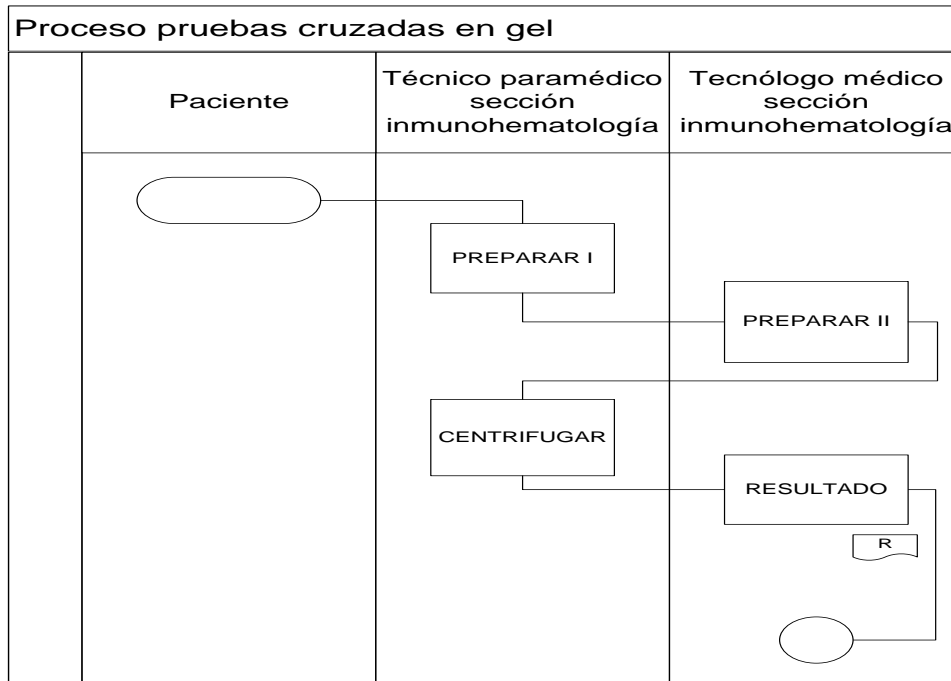
4.4 Interpretación:

- La presencia de aglutinación indica que la unidad a transfundir es incompatible, por lo que debe ser descartada.
- La ausencia de aglutinación indica que la unidad a transfundir es COMPATIBLE por lo que puede ser administrada al paciente.

4.5 INDICADOR


Nombre del Indicador:	Proporción de pruebas de compatibilidad (PC) incompatibles.
Tipo:	Proceso
Dimensión de la Calidad:	Cumplimiento Normas MINSAL
Justificación	-Seguridad Transfusional. -Para la implementación de la técnica de identificación de anticuerpos irregulares, con posterior solicitud de fenotipificación de unidades al CSV.
Fórmula	$\frac{\text{Número de PC incompatibles}}{\text{Nº Total de PC realizadas}} \times 100$
Fuente de datos	Libro de registro de pruebas cruzadas.
Umbral de cumplimiento	$\geq 5\%$
Periodicidad	Mensual
Responsable del monitoreo de la información	Tecnólogo Médico Supervisor, Tecnólogo Médico Supervisor subrogante UMT.

4.6 FLUJOGRAMA DE INFORMACIÓN



R:

Resultado

	Manual de Inmunohematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 47 de 59

Lista de tareas flujograma de información:

PREPARAR I:

- Centrifugar muestra de paciente a estudiar
- Dejar mesón de trabajo con insumos para estudio de muestra por Tecnólogo médico

PREPARAR II:

- Identificar columna (s) a utilizaren tarjeta
- Diluir al 1% glóbulos rojos del donante
- Agregar dilución a columna (s)
- Agregar suero del paciente a estudiar
- Incubar

RESULTADO:


- Leer, interpretar y registrar resultados en software y libro correspondiente
- Imprimir resultado

V.- Registros:

Los resultados son registrados en **Libro de Pruebas Cruzadas** ubicado en estante colgante de sección Inmunohematología y en la **Solicitud de Transfusión**.

Además, los resultados deben ser registrados en el sistema computacional, **e-Delphyn**.

La forma correcta de realizar los registros se presentan en el Anexo N°3: Registro de resultados para clasificación ABO-RhD, Test de Antiglobulina humana y Detección de anticuerpos irregulares.

	Manual de Inmunoematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 48 de 59

TOMA DE MUESTRA EN LA UNIDAD DE MEDICINA TRANSFUSIONAL

I.- Objetivo:

Estandarizar el proceso de extracción de muestras sanguíneas en pacientes hospitalizados y ambulatorios por Técnicos paramédicos, alumnos en práctica y Tecnólogos Médicos de la Unidad de Medicina Transfusional del Hospital Regional Rancagua.

II.- Alcance:

2.1 Campo de aplicación

Clasificación de grupo sanguíneo ABO y Rh, detección de anticuerpos irregulares, pruebas de compatibilidad, TAI, TAD.

2.2 Personas

Funcionarios de la Unidad de Medicina Transfusional, como Médico jefe, Tecnólogo Médico Supervisor, Tecnólogos Médicos y Técnicos Paramédicos. Médico solicitante.

Todo paciente susceptible de recibir una transfusión de hemocomponentes.

Toda persona que acuda a donar sangre.

III.-Encargado de ejecución y responsabilidad:


Tecnólogo médico: La realización de la toma de muestras, es responsabilidad del Tecnólogo Médico de transfusiones y tecnólogo Médico de donantes.

Técnico Paramédico: La realización de la toma de muestra también es responsabilidad del Técnico Paramédico de Transfusiones y Técnico Paramédico de Donantes, así como también, de preparar material e insumos necesarios para que Tecnólogo Médico realice el procedimiento.

IV.- Desarrollo:

4.1 Fundamento

La toma de muestras sanguíneas es el conjunto de procedimientos destinados a obtener una parte representativa de sangre, para el correcto diagnóstico e interpretación de exámenes solicitados por el clínico.

	Manual de Inmunoematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 49 de 59

4.2.- Materiales, insumos y equipos:

4.2.1 Materiales

- 4.2.1.1 Guantes de látex o vinilo.
- 4.2.1.2 Bolas de algodón hidrofílico del tamaño de una nuez.
- 4.2.1.3 Contenedor de cortopunzante.
- 4.2.1.4 Botella de 1000 ml de alcohol desnaturalizado 70°
- 4.2.1.5 Jeringa plástica desechable de 5, 10, 20ml (según cantidad de muestra a extraer) o sistema venojet.
- 4.2.1.6 Aguja de 21Gx1-1/2" (0.8 x 38mm)
- 4.2.1.7 Ligadura de brazo
- 4.2.1.8 Tela adhesiva
- 4.2.1.9 Tubos plásticos de capacidad 5 ml sin anticoagulante
- 4.2.1.10 Tubos plásticos de capacidad 10 ml sin anticoagulante (tapa roja)

4.2.2 Insumos


- 4.2.2.1 NO APLICA

4.3 Equipos

- 4.3.1 Baño termorregulador a 37° C.

4.4 Descripción:

- 4.4.1 Reunir el material a utilizar y trasladarlo hacia el paciente en una bandeja o cooler.
- 4.4.2 Asegúrese que el paciente corresponde al indicado en la orden de examen.
- 4.4.3 Explique el procedimiento al paciente
- 4.4.4 Realizar lavado clínico de manos.
- 4.4.5 Poner guantes de látex o vinilo.
- 4.4.6 Poner la huincha de ligadura 8cm sobre la fosa cubital de cualquier brazo, para identificar venas a puncionar.
- 4.4.7 Ubicar la vena a puncionar, limpiar y desengrasar por arrastre la zona a puncionar con una bola de algodón empapado en alcohol desnaturalizado 70°. Espere hasta que el etanol se evapore
- 4.4.8 Rotular con letra clara los tubos de muestra con: nombre paciente, fecha y examen solicitado
- 4.4.9 Sacar la jeringa y atornillar la aguja en el extremo agudo de esta, retirando el capuchón que cubre la aguja o arme el sistema venojet, atornillar la aguja envuelta en goma en la "camisa" o receptáculo para tubos y del otro extremo retirar el capuchón de protección de la aguja.
- 4.4.10 Puncionar la piel y luego la vena en ángulo de 25° con respecto a la piel, de forma lenta y segura.
- 4.4.11 Al observar el reflujo de sangre debe soltar la ligadura, continuar aspirando la sangre suavemente tirando el embolo hacia atrás, hasta obtener

	Manual de Inmunoematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 50 de 59

el volumen deseado. En el caso de sistema venojet una vez hecha la punción poner tubos con EDTA, sin anticoagulante o ambos. (Este sistema permite recolectar varios tubos de sangre, con una sola punción)

4.4.12 Sacar la ligadura, luego la aguja y aplicar presión suave con algodón seco (de preferencia estéril) por dos minutos, hasta lograr correcta hemostasia.

4.4.13 Llenar el o los tubos con la muestra recolectada (si utilizó jeringa)

4.4.14 Eliminar agujas en caja de cortopunzantes; el material no cortopunzante se elimina en caja de desechos biológicos.

4.4.15 Eliminar los guantes a la basura y realizar lavado clínico de manos

4.4.16 Colocar algodón con tela adhesiva en el sitio de punción y despedir al paciente guiándolo a la salida.

4.4.17 Registrar el procedimiento realizado, en el caso de estar en sala

4.4.18 Enviar las muestras al banco de sangre junto con la orden de exámenes solicitados

4.5 Precauciones:

4.5.1 La muestra se lleva a 37° en baño termorregulado hasta separar el suero de eritrocitos.

4.5.2 La compresión demasiado fuerte de la extremidad, con la ligadura, puede producir hemólisis y equimosis en las zonas afectadas

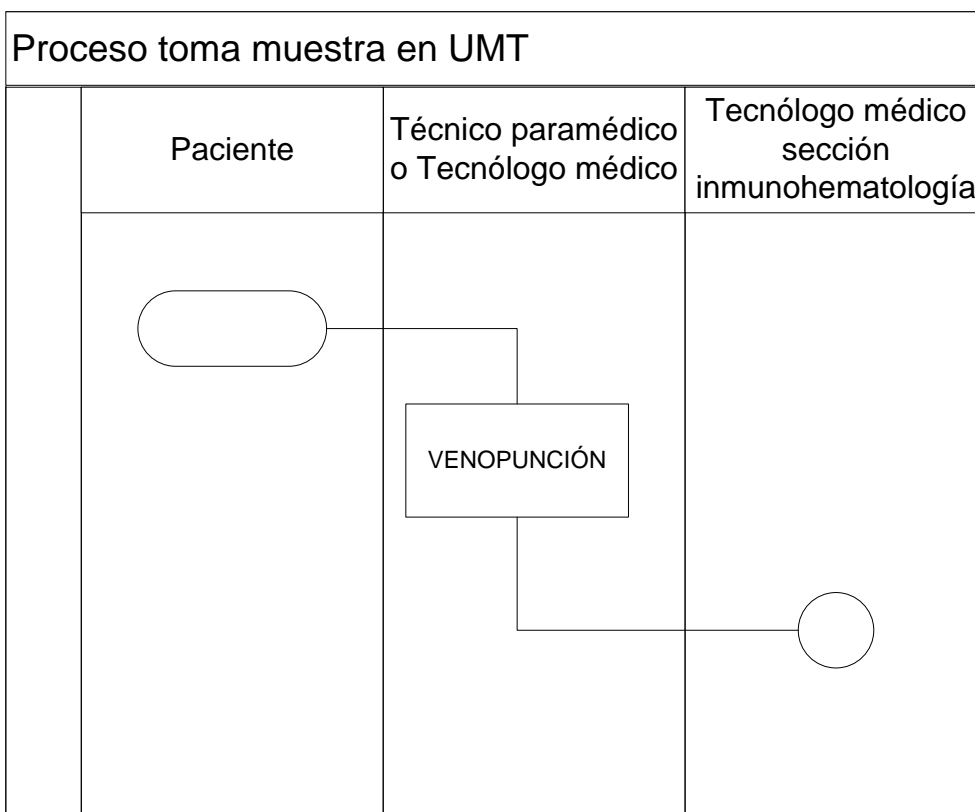
4.5.3 Un aspirado de sangre demasiado rápido con jeringa, puede producir colapso del vaso o hemólisis de la muestra

4.5.4 Las venas de elección para puncionar están en fosa cubital: venas basílicas, cefálicas y medianas. En antebrazo: venas radiales superiores, cubitales y medianas.

4.5.5 Verificar que la vena a puncionar no esté cerca de un sitio de infusión endovenosa.

4.5.6 No puncionar un sitio recientemente puncionado y con claros signos de hematoma.

4.6 FLUJOGRAMA DE INFORMACIÓN




UMT: unidad de medicina Transfusional

Lista de tareas para flujograma de información:

VENOPUNCIÓN:

- Verificar nombre del paciente
- Explicar el procedimiento que se realizará
- Lavado clínico de manos
- Uso de guantes
- Rotulación de tubos con nombre y dos apellidos del paciente, fecha y examen solicitado
- Ligar y ubicar vena a puncionar
- Desinfectar zona de punción por arrastre con algodón con alcohol a 70°
- Realizar punción

	Manual de Inmunohematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 52 de 59

- Conseguir volumen deseado según examen
- Retirar ligadura
- Poner algodón con tela adhesiva en sitio de punción
- Eliminar desechos en caja de material corto punzante
- Despedir al paciente
- Llevar muestra a Tecnólogo médico de la sección de Inmunohematología.

Definiciones y abreviaturas:

1.1 Definiciones

1.1.1 Aglutinación: Es la formación de la unión antígeno anticuerpo que se puede detectar a simple vista

1.1.2 Anticuerpos: Se conocen también como inmunoglobulinas, son proteínas del tipo globulina, se pueden encontrar en sangre y otros fluidos son los encargados de estimular la respuesta inmune.

1.1.3 Antígenos: Es cualquier sustancia que genera la formación de anticuerpos y pueden causar una respuesta inmune.

1.1.4 Antisuero: Es una solución que contiene anticuerpos que reaccionan específicamente con un antígeno.

1.1.5 Enfermedad hemolítica del recién nacido: Es la reacción inmunológica del organismo de la madre contra en feto, que puede estar determinada por una incompatibilidad sanguínea.

1.1.6 Reacción post transfusional: Es cualquier complicación generada por la transfusión, ya sea hemolisis, urticaria, etc. Debe ser consignada para futuras transfusiones.

1.1.7 Suero antiglobulina: Es una solución que contiene anticuerpos cuyo antígeno son otras globulinas, llamadas antiglobulinas.

1.2 Abreviaturas

1.2.1 UMT: Unidad de Medicina Transfusional

1.2.2 EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético.

1.2.3 EHRN: Enfermedad hemolítica del recién nacido.


1.2.4 IgG: Inmunoglobulina G.

1.2.5 PBS: buffer fosfato salino

1.2.6 SAGH: Suero antiglobulina humana

1.2.7 Ag: Antígeno

1.2.8 Ac: Anticuerpo

	Manual de Inmunoematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 53 de 59

Referencias:

Manual técnico AABB 2007
Manual inmunoematología Universidad de Talca
Técnicas inmunoematológicas para el trabajo con geles marca Grifols

ANEXOS

Anexo N°1: Identificación de muestras


Las muestras deben ser registradas en el sistema computacional y los libros correspondientes. El sistema lanza un numero de petición y en la etiqueta indica los siguientes datos:

- A) Nombre y dos apellidos
- B) RUN
- C) Edad
- D) fecha
- E) Número de solicitud o petición
- F) Ubicación del paciente dentro del hospital (si corresponde).

Las muestras deben ser identificadas con las etiquetas, con los códigos de barras que permitan generar un control de la trazabilidad de la muestra desde su ingreso. Estas etiquetas deben ser pegadas al tubo que contiene la muestra y a la solicitud de examen.

Anexo N°2: Manejo de la centrifugar ROTOFIX 32 A.

1. Comprobar si la centrifuga está conectada a la corriente.
2. Encender la centrifuga, en el botón POWER.
3. Presionar la tecla LID para abrir la tapa de la centrifuga.
4. Retirar los capachos del interior de la centrifuga.
5. Ordenar los tubos en los capachos, procurando que estén equilibrados.
6. Poner en el interior de la centrifuga los capachos, poniendo frente a frente los capachos que están equilibrados.
7. Cerrar la tapa de la centrifuga.
8. Seleccionar el tiempo de centrifugación presionando las flechas arriba o abajo hasta llegar al tiempo deseado, que se encuentran bajo la opción "t".
9. Seleccionar las revoluciones de centrifugación presionando las flechas arriba o abajo hasta llegar a las revoluciones deseadas, que se encuentra bajo la leyenda RPM/RCFx100.
10. Presionar la tecla START para comenzar la centrifugación.

	Manual de Inmunohematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 54 de 59

11. Cuando la centrifugación finalice se encenderá la luz que está al lado del botón LID.
12. Presionar la tecla LID para abrir la tapa de la centrifuga.
13. Retirar los capachos con los tubos.
14. Sacar los tubos de los capachos.

Poner nuevamente los capachos en su posición correspondiente en la centrifuga

Anexo N°3: Registro de resultados para clasificación ABO-Rh, Test de Antiglobulina humana y Detección de anticuerpos irregulares.

Los resultados deben ser consignados en el sistema computacional y los libros correspondientes y deben indicar los siguientes datos:

- A) Nombre y apellidos
- B) Fecha de nacimiento
- C) Edad
- D) RUT
- E) Ubicación del paciente
- F) Numero de solicitud
- G) Resultados del o los exámenes realizados

Todos estos resultados deben ser consignados en el recuadro correspondiente para cada dato.

Para registrar en el sistema computacional **e-Delphyn:**

- A) Módulo Laboratorio
- B) Resultados por muestra
- C) Ingresar Número de Solicitud (con pistola láser o manual)
- D) Ingresar el Resultado del o los exámenes realizados

El resultado de la clasificación ABO y Rh D debe ser consignado manualmente en el tubo.

Así mismo, para registrar en los libros se debe tener presente la AGLUTINACIÓN EN CRUCES, esto debido a que, las reacciones Ag-Ac pueden evidenciarse de diferentes formas, y las Unidades de Medicina Transfusional se visualizan por medio de la aglutinación de los Glóbulos Rojos.

INFORME DE AGLUTINACIÓN EN CRUCES:

FUERZA DE REACCIÓN	ASPECTO
4+	Aglutinado único. Ausencia de células libres.
3+	Reacción fuerte. Presencia de aglutinados grandes. Sin células libres.
2+	Aglutinados grandes en un mar de aglutinados pequeños. Sin células libres.
1+	Muchos aglutinados pequeños. Muchas células libres.
0	Ausencia de aglutinación.


Los resultados **positivos** de coombs directos e indirectos deben registrarse con **ROJO**.

Anexo N°4: Manejo de centrífuga DG Spin

1. Comprobar si la centrífuga está conectada a la corriente.
2. Encender la centrífuga en el botón POWER, en parte posterior de la centrífuga.
3. Presionar el botón OPEN para abrir la tapa de la centrífuga.
4. Para centrifugar tarjetas de gel, poner las tarjetas de gel que se deseen centrifugar, procurando equilibrar.
5. Cerrar la tapa de la centrífuga.
6. Presionar el botón START para comenzar la centrifugación.
7. Terminada la centrifugación presionar el botón LID para abrirla tapa de la centrífuga.
8. Retirar las tarjetas de gel del interior de la centrífuga.

Anexo N°5: Manejo del incubador DG Therm

1. Comprobar que el incubador esté conectado a la corriente.
2. Encender el equipo en el botón POWER, que está en la parte posterior del incubador y esperar que tome temperatura.
3. Levantar la tapa del incubador.
4. Poner las tarjetas de gel en las ranuras correspondientes. Si se desea incubar tubos ponerlos en los capachos que se encuentran en el borde exterior del incubador.
5. Cerrar la tapa del incubador.
6. Presionar el botón Start, y comenzará a correr el tiempo de incubación (15 minutos).
7. Terminado el tiempo de incubación levantar la tapa del incubador.

	Manual de Inmunohematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 56 de 59

8. Retirar las tarjetas de gel o los tubos según corresponda.
9. Cerrar la tapa del incubador.

Anexo N°6: Manejo de la fuente de luz

1. Comprobar que la fuente de luz esté operativa.
2. Encender la luz presionando el interruptor.
3. Si se utiliza la lámina, realizar el aseo posterior a su uso.
4. Apagar la fuente de luz posterior a su uso, presionando el interruptor.

Anexo N°7: Preparación de reactivos

1. Buffer fosfato salino (PBS) pH 7

- 1.1 Para preparar 2 litros de PBS.
- 1.2 Se deben agregar 2 tabletas de Buffer fosfato salino.
- 1.3 Se rotula con la fecha de preparación y responsable de preparación.
- 1.4 Se deja reposar para que las pastillas se disuelvan.
- 1.5 Mezclar antes de usar.

2. Suero AB inerte


El suero AB inerte tiene múltiples usos en inmunohematología, desde suero control negativo de reacciones serológicas hasta diluyente de Acs en titulación. Al calentar el plasma 1 hora a 56 °C, se denatura el fibrinógeno precipitando y se inactiva el complemento.

Materiales:

- Plasma fresco AB con tamizaje microbiológico negativo.
- Baño maría a 56 °C.
- Centrífuga

Técnica:


- a) El plasma AB, debe ser de un donante que no posea Ac Irregulares en ningún medio, haciendo los estudios a 4 °C, 22 °C y 37 °C.
- b) Ponga el plasma en la misma bolsa, bien sellada en el baño maría a 56 °C, durante 1 hora.
- c) Centrifugar a alta velocidad por 10 minutos y transferir el sobrenadante a tubos limpios.
- d) Deje los tubos toda la noche a 4 °C.
- e) Filtre el suero y guárdelo en alícuotas de 1 ml a -30 °C.

	Manual de Inmunohematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 57 de 59

- f) Establezca ausencia en aglutinación empleando Glóbulos rojos de antigenicidad conocida y a las T° señaladas en el punto a), incube 1 hora, luego centrifugar y realizar las pruebas hasta Coombs.

Anexo N°8: Preparación de glóbulos rojos testigos

1. Recolectar dos bolsas de sangre, una de grupo A y una del grupo B, que tengan serología negativa.
2. Tomar 2 ml de sangre de la bolsa A y depositarlos en un tubo Khan de 10 ml, previamente marcado como A.
3. Tomar 2 ml de sangre de la bolsa B y depositarlos en un tubo Khan de 10 ml, previamente marcado como B.
4. Llenar con PBS hasta 1 cm del borde superior del tubo.
5. Tapar con parafilm y mezclar por inversión 4 veces.
6. Centrifugar 4000 rpm por 5 minutos.
7. Eliminar el sobrenadante con una pipeta Pasteur.
8. Repetir este proceso desde el punto 4 al 7 hasta obtener un sobrenadante libre de hemolisis.
9. Tomar 2 tubos de 10 ml.
10. Identificar 1 tubo como glóbulos rojos testigos A.
11. Identificar 1 tubo como glóbulos rojos testigos B.
12. Agregar un volumen suficiente de los glóbulos lavados A al tubo identificado como glóbulo rojo testigo A. Si es necesario agregar más glóbulos rojos lavados hasta conseguir una concentración de 2-3%.
13. Agregar un volumen suficiente de los glóbulos lavados B al tubo identificado como glóbulo rojo testigo B. Si es necesario agregar más glóbulos rojos lavados hasta conseguir una concentración de 2-3%.
14. Tapar los tubos y mezclar por inversión.
15. Conservarlos entre 2-8 °C. Su duración máxima es de un día.

	Manual de Inmunoematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 58 de 59

Anexo N°9: Registro de resultados de Pruebas de Compatibilidad

Los resultados deben ser consignados en Libro de pruebas Cruzadas e incluirán los siguientes datos:

- A) Nombre y apellidos
- B) Procedencia
- C) Clasificación ABO-RhD del paciente
- D) Hemocomponente compatibilizado (Clasificación ABo - RhD, Código Unidad, Resultado de la prueba cruzada)
- E) Fecha/Hora
- F) Resultado

Todos estos resultados deben ser consignados en el recuadro correspondiente para cada dato.

Los resultados **positivos** deben registrarse con lápiz **ROJO**.

Para registrar en el sistema computacional **e-Delphyn**:


- A) Módulo Paciente
- B) Buscar información por paciente
- C) Ingresar el RUT y seleccionar el paciente
- D) Seleccionar petición
- E) Reservar Unidad
- F) Añadir
- G) Agregar la unidad compatibilizada
- H) Aceptar

Se deben registrar todas las unidades compatibilizadas, ya sean negativas o positivas.

Así mismo, para registrar en los libros se debe tener presente la AGLUTINACIÓN EN CRUCES, esto debido a que, las reacciones Ag-Ac pueden evidenciarse de diferentes formas, y las Unidades de Medicina Transfusional se visualizan por medio de la aglutinación de los Glóbulos Rojos.

INFORME DE AGLUTINACIÓN EN CRUCES:

FUERZA DE REACCIÓN	ASPECTO
4+	Aglutinado único. Ausencia de células libres.
3+	Reacción fuerte. Presencia de aglutinados grandes. Sin células libres.

	Manual de Inmunohematología HRR	Código: SGC-MIH
		Fecha: 30 Julio 2015
		Versión: 4.0
		Página: 59 de 59

2+	Aglutinados grandes en un mar de aglutinados pequeños. Sin células libres.
1+	Muchos aglutinados pequeños. Muchas células libres.
0	Ausencia de aglutinación.

Versión y control de cambio:

01	11/06/2012	VERSIÓN CAMBIO FORMATO COMPLETO DEL DOCUMENTO
02	15/06/2012	Actualizaciones generales
03	30/07/2015	Actualización del protocolo