

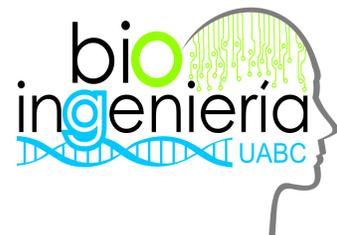


FIAD :Bioingeniería

INMUNOLOGÍA (19528)

M. C. Pedro Victoria Peralta

ELABORADO EN 2015
REVISADO EN 2016



Introducción

La hematopoyesis es el proceso de formación, desarrollo y maduración de los elementos formes de la sangre a partir de un precursor celular común e indiferenciado conocido como célula madre hematopoyética, célula tallo o *stem cell*. La hematopoyesis en los seres humanos se subdivide en dos sistemas: embrionario (primitivo) y el sistema definitivo (adulto o maduro). Se distinguen conceptualmente tres periodos de la hematopoyesis: el mesoblástico, el hepático y el mieloide. Durante la primera fase, o de hematopoyesis primitiva, circulan en el feto eritroblastos nucleados originados en: el saco de Yolk. (Saco vitelino).

La hematopoyesis definitiva depende de la actividad de las células hematopoyéticas pluripotenciales denominadas células tallo, madre o progenitoras. Estas células al dividirse dan lugar a dos poblaciones: la primera idéntica a sí misma y la segunda cuya progenie evoluciona hacia un linaje específico (hematoprogenitor), sea eritroide, mieloide o linfoide. Estas células en el adulto se encuentran en la médula ósea.

Competencia del taller

Analizar el proceso de formación de las células de la sangre y la diferenciación de la célula madre hematopoyética hacia las diversas líneas celulares que da origen, para que el alumno reconozca algunas de las principales formas inmaduras de la médula ósea.

Metodología

Presentación en powerpoint y microscopía de aspirados de médula ósea preseleccionados.

Bibliografía

1. Cellular and Molecular Immunology. By Abul K. Abbas and Andrew H. H. Lichtman. Seventh Edition, 2012.
2. Hematología. La sangre y sus enfermedades. Dr. José Carlos Jaime Pérez y David Gómez Almaguer. 3ra Ed. McGraw Hill 2012.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE INGENIERÍA, ARQUITECTURA Y DISEÑO
BIOINGENIERÍA



NOMBRE DE LA MATERIA	INMUNOLOGIA	CLAVE	19528
NOMBRE DE LA PRÁCTICA	TALLER DE VENOPUNCION Y FROTIS	PRÁCTICA NÚMERO	2
PROGRAMA EDUCATIVO	BIOINGENIERÍA	PLAN DE ESTUDIOS	2009-2

EQUIPO-HERRAMIENTA REQUERIDO	CANTIDAD
AGITADOR DE TUBOS	1
MICROSCOPIO	1 POR EQUIPO

MATERIAL-REACTIVOS REQUERIDOS	CANTIDAD
Torundas con alcohol 70%	1 fco.
Torniquetes	1 por equipo
Tubos vacutainer tapón morado (EDTA)	1 por equipo
Jeringas de 5ml con aguja	1 por equipo
Portaobjetos esmerilados	1 caja
Cubreobjetos	1 caja
Juego de tinción de Wright	1 set
Gradilla	1 por equipo
Tubos capilares	1 por equipo

SOFTWARE REQUERIDO	
OBSERVACIONES-COMENTARIOS	
Fecha de elaboración	Fecha de última actualización
Febrero 2015.	
Elaboró	
M. EN C. PEDRO VICTORIA PERALTA	Firma(s)
Revisó	
Miembro de Academia de Bioingeniería	Firma
Miembro de Academia de Bioingeniería	Firma
Miembro de Academia de Bioingeniería	Firma

Introducción

El cuerpo humano adulto tiene entre 4,5 y 6 litros de sangre. El 55% es plasma, que es la parte líquida el cual contiene una gran cantidad de proteínas diversas incluyendo los factores de la coagulación. El 45% restante se compone de eritrocitos, leucocitos y plaquetas.

Por la circulación sanguínea viajan tres tipos de células:

1.- Los eritrocitos o glóbulos rojos o hematíes. Son células en forma de disco bicóncavo que no tienen núcleo. En la sangre hay normalmente entre 4 y 5,5 millones por milímetro cúbico. Viven unos 120 días. Su tamaño es de unas 8 micras. Su función es transportar el oxígeno desde los pulmones hasta las células de todos los tejidos del cuerpo. Para ello utilizan una proteína llamada hemoglobina, que contiene hierro y es capaz de transportar moléculas de oxígeno. La hemoglobina es lo que da el típico color rojo a estas células.

2.- Los leucocitos o globulos blancos. Son células que forman parte del sistema inmunológico. Tienen la función de combatir los microorganismos infecciosos y otros antígenos extraños, incluyendo células infectadas por virus y neoplasias. Se producen en la médula ósea. En la sangre periférica hay entre 5.000 y 10.000 leucocitos por milímetro cúbico. Los glóbulos blancos están dispersos por todo el cuerpo, y se clasifican en: granulocitos, linfocitos y monocitos.

3.- Las plaquetas o trombocitos. Son partículas que participan en la hemostasia cuando hay sangrados. Se fabrican en la médula ósea. Tienen un tamaño de 3 o 4 micras, son de forma oval y no tienen núcleo. Suele haber entre 150.000 y 400.000 plaquetas por milímetro cúbico en sangre periférica.

Las tinciones usadas en hematológicas se clasifican de acuerdo al nivel de vitalidad de las células que se pretenden colorear y se dividen en:

- a) Tinciones vitales y supravitales son aquellas que se realizan sobre células que están vivas.
- b) Las tinciones vitales son las que se realizan sobre células que están vivas, mediante la introducción de un colorante en la circulación de un organismo vivo. Son colorantes vitales el verde Jano y el azul de metileno.
- c) Las tinciones supravitales son aquellas que se realizan sobre células o tejidos vivos, pero que están aislados del organismo del que proceden.
- d) Las tinciones no vitales se realizan sobre células muertas. Para ello se requiere de un proceso de fijación, que tiene por objeto mantener inalterada su estructura y el adherirlas firmemente a la superficie del portaobjetos. Esta fijación puede realizarse mediante calor, o bien por inmersión en etanol o metanol.

Competencia de la práctica

Revisar el procedimiento y practicar la técnica de venopunción, así como la realización de diversos frotis de sangre periférica, para que el alumno desarrolle la habilidad de realizar venopunciones y tenga la oportunidad de realizar frotis de sangre periférica, donde aprenderá a reconocer los elementos formes maduros.

Metodología

Técnica de la venopunción:

1. Una venopunción siempre debe realizarse con cuidado. Hay que recordar que todas las muestras biológicas deben considerarse potencialmente infectocontagiosas, por lo que se deben seguir las medidas de seguridad durante el procedimiento, usando guantes de latex. Colocar al paciente en una posición cómoda, de preferencia sentado con el brazo a puncionar hiperextendido, de manera que la mano esté más baja que el codo.
2. Colocar el torniquete por encima de la flexura del codo de 5 a 10 cm, pedir al paciente que cierre el puño. Seleccionar la vena por palpación cuidadosamente
3. Desinfectar la zona elegida con una torunda con alcohol, y dejar secar al aire.
4. Inmovilice la vena seleccionada (generalmente la vena mediana cefálica es la de elección) colocando el pulgar debajo de la zona de punción y tense la piel. Con el bisel hacia arriba puncione la piel con un suave y rápido movimiento y en un ángulo de aproximadamente unos 15 grados con respecto al brazo. La pared superior de la vena debe ser puncionada y el bisel debe quedar en el interior de la vena. Cuando el agua penetra al interior de la vena se siente una menor resistencia.
5. Cuando la aguja está colocada en la luz de la vena, asegúrese de no moverla y haga vacío suavemente con el embolo de la jeringa para obtener la muestra.
6. Una vez que se tiene una muestra suficiente, suelte la ligadura, retire la jeringa con la aguja y coloque una torunda de alcohol en el sitio de la venopunción. Deje la torunda en posición y pida al paciente que doble su brazo durante 5 minutos.
7. Vacíe el contenido de la jeringa al tubo vacutainer con anticoagulante, el cual debe ser homogenizado suavemente por inversión y luego colocado en el agitador de tubos.

Técnica del frotis:

Metodo manual para hacer un frotis en cuña.

1. Se requieren dos portaobjetos esmerilados perfectamente limpios. Uno para el frotis y otro que servirá de cuña para hacer el extendido.
2. Si utiliza sangre anticoagulada tome una alícuota con ayuda de un tubo capilar, a partir del tubo vacutainer con EDTA previamente bien homogenizado.
3. Coloque una gota de la muestra en uno de los extremos de la laminilla mientras esta se encuentra apoyada en una superficie lisa, procure que la gota quede a un centímetro de uno de los extremos.
4. Sujete esta laminilla con su mano izq. Mientras que con la derecha coloque una segunda laminilla en un ángulo de 45 grados sobre la primera, y por delante de la gota.
5. Acerque la laminilla lentamente hacia la gota. Tan pronto como esta entre en contacto con la muestra la sangre se esparcirá a todo o ancho de la laminilla.

6. Mantenga este ángulo y ahora corra la laminilla hacia adelante sin despegarla de la primer laminilla. Esto producirá un extendido a todo lo largo de la laminilla.
7. Deje secar al aire y estará listo para su tinción con el colorante de Wright.

Tinción de Wright-Giemsa:

1. Usando laminillas secadas al aire, deberá fijar la muestra con metanol antes de iniciar la tinción.
2. Teñir con Wright-Giemsa por 4 minutos.
3. Agregar a la tinción el buffer de fosfatos, mezclando el buffer con la tinción. Espere 7 minutos.
4. Enjuagar la laminilla en agua corriente y dejar secar al aire.

Bibliografía

1. Hematology, principles and procedures. By Barbara A. Brown. Fifth edition, Lea & Febiger, 1988.

Introducción

La cuenta diferencial de leucocitos se realiza para determinar el número relativo de cada tipo de glóbulo blanco presente en sangre periférica. Generalmente al mismo tiempo se revisa la morfología de los glóbulos rojos, glóbulos blancos y la morfología de las plaquetas. El diferencial y la revisión del frotis habitualmente se realizan posteriores al recuento celular, así el examen del frotis sirve como control del reporte cuantitativo.

Algunas causas frecuentes que se asocian a un incremento en la cuenta de algún tipo específico de célula son:

1. Neutrofilia (Apendicitis, leucemia mieloide, infecciones bacterianas).
2. Eosinofilia (Alergias, fiebre escarlatina, infecciones parasitarias, leucemia eosinofílica).
3. Linfocitosis (Infecciones virales, tosferina, mononucleosis infecciosa, leucemia linfocítica).
4. Monocitosis (Brucelosis, tuberculosis, leucemia monocítica, endocarditis bacteriana subaguda, tifoidea, infecciones por rickettsia, enfermedad de la colágena, enfermedad de Hodgkin, enfermedad de Gaucher).

Competencia de la práctica

Conocer cómo se realiza una cuenta diferencial de leucocitos para estimar el número relativo de cada tipo de célula presente en un frotis.

Metodología

1. Coloque la laminilla en el microscopio con el frotis hacia arriba.
2. Examine el frotis usando el objetivo de bajo poder (10x).
3. Examine la parte delgada del frotis para buscar si existe una mayor presencia de leucocitos en esta área, lo cual significa que la distribución de las células fue afectada por el arrastre de las células más grandes. En este caso tendrá que repetir el frotis. De igual forma investigue si se observan cúmulos plaquetarios, pues de ser así, las plaquetas estarán disminuidas en el resto del frotis.
4. Haga un breve recorrido del frotis para buscar un área adecuada para hacer el diferencial, donde las células no se encimen y la tinción sea adecuada. Generalmente se usa una región que no es ni la parte más gruesa del frotis, ni la parte más delgada.
5. Inicie el recuento diferencial al mismo tiempo que examina la morfología de las células. Es importante revisar el frotis siguiendo un patrón de zigzag.
6. Realice una cuenta total de 100 leucocitos para estimar el diferencial porcentual. Si observo normoblastos lleve una cuenta separada de ellos para que no los reporte dentro del 100% de células contabilizadas. Al hacer el reporte hay que especificar que se observó un número X de normoblastos por cada 100 leucocitos. Esto también aplica si se observan megacariocitos, células en canasta, células epiteliales, etc.
7. Cuando la cuenta de leucocitos es menor a mil células por mm^3 , es difícil encontrar las suficientes células en el frotis por lo que se recomienda contar solo 50 células para hacer la estimación, y poner un comentario en el reporte, o bien si es posible hacer un frotis del "buffy coat".

Bibliografía

1. Hematology, principles and procedures. By Barbara A. Brown. Fifth edition, Lea & Febiger, 1988.

Introducción

En una persona sana la cuenta de leucocitos fluctúa entre 4.5 y 11.0 miles/mm³. Sin embargo esta cuenta varía con la edad, por ejemplo un recién nacido tiene entre 10 y 30 miles/mm³.

Una cuenta de blancos aumentada generalmente indica que hay una infección y generalmente se emplea para dar seguimiento a algunas enfermedades. Los glóbulos blancos generalmente se elevan en infecciones bacterianas, apendicitis, leucemia, embarazo, enfermedad hemolítica del recién nacido, uremia, úlceras, etc. Por otra parte, la cuenta de blancos cae por debajo de lo normal en infecciones virales como el sarampión, brucelosis, fiebre tifoidea, hepatitis infecciosa, artritis reumatoide, cirrosis, lupus eritematoso sistémico, etc.

Una cuenta de blancos por arriba de 11.0 miles/mm³ es llamada leucocitosis, mientras que una cuenta por debajo de lo normal es llamada leucopenia. El siguiente procedimiento que se presenta en detalle es para la cuenta manual de glóbulos blancos.

Competencia de la práctica

Saber realizar una cuenta total de leucocitos en sangre periférica mediante el uso de la cámara de Neubauer.

Metodología

Diluyente de glóbulos blancos: (Cualquiera de los siguientes)

- a. Ácido acético 2% v/v en agua destilada.
- b. Ácido clorhídrico al 1% v/v en agua destilada.
- c. Diluyente de Turk:
Ácido acético glacial 3ml + violeta de Genciana acuosa 1% w/v 1ml, llevar a 100 ml con agua destilada.

Espécimen: sangre total con EDTA.

Principio: La sangre total es mezclada con una solución ácida débil para diluirla y hemolizar los glóbulos rojos.

Procedimiento:

1. Hacer una dilución de la muestra usando una pipeta para leucocitos.
 - a) Mezcle la muestra de sangre en el agitador mecánico. Usando un aspirador y la pipeta de blancos, tome una alícuota de la muestra hasta la marca de 0.5 en la pipeta. Procure pasarse lo menos posible de otro modo la dilución no será correcta.
 - b) Retire el exceso de eritrocitos de la externa de la pipeta, y si es necesario ajuste la alícuota usando una gaza levemente humedecida para evitar que sea demasiado absorbente.
 - c) Sosteniendo la pipeta casi verticalmente, coloque la punta dentro del diluyente de leucocitos utilizado. aspire el líquido lentamente hasta que alcance la marca de 11. En este paso es permisible que el nivel del líquido se pase un poco o bien que quede un poco por debajo.

- d) Coloque la pipeta en posición horizontal y firmemente presione la punta de la pipeta con su dedo índice para que pueda retirar el aspirador del otro extremo. La dilución esta ahora completa.
 - e) Si tomo 0.5 y lo llevo a 11 habrá 0.5 volúmenes de ST y 9,5 volúmenes de diluyente en el bulbo, es decir hizo una dilución de 0.5 en 10, es decir 1:20.
 - f) Repita el procedimiento anterior con la misma muestra para tener un duplicado de la dilución.
2. Limpie la cama de Neubauer y el cubre que va a utilizar con etanol al 95%.
 3. Mezcle la dilución por aproximadamente 3 min, para asegurar que ocurra la hemólisis de los eritrocitos y la dilución se homogenice. Esto puede realizarse utilizando un agitador mecánico o bien puede hacerse manualmente.
 4. Llene la cámara de Neubauer.
 - a) Sostenga la pipeta de blancos nuevamente en posición vertical manteniendo el dedo índice firmemente en el extremo superior de la pipeta. Deseche las primeras cuatro gotas de la dilución en una gaza.
 - b) Retire el exceso de líquido del exterior de la pipeta con una gasa si fuera necesario.
 - c) Controlando el flujo con su dedo índice coloque la punta de la pipeta en la orilla de la cámara, permitiendo que la dilución penetre por capilaridad por debajo del cubreobjetos, hasta que llene toda el área del recuento.
 - d) Llene la otra área de conteo con la segunda dilución.
 - e) Deje la cámara reposar sin movimiento durante 1 min antes de realizar el conteo para que las células se sedimenten y queden a un mismo plano.
 5. Cuente los leucocitos.
 - a) Cuidadosamente coloque la cámara en el microscopio y cuente los leucocitos. Use el objetico 10x únicamente. Haga un escaneo de las cuatro áreas de leucocitos, las cuales deben mostrar una distribución uniforme de las células, con una variación menor a 10 células.
 - b) Inicie la cuenta en el cuadrante superior izquierdo. Cuente todos los leucocitos de los cuatro cuadrantes. En caso de que algunas células se encimen en los bordes del perímetro, incluya solo aquellas células que toquen la línea izquierda y superior.
 6. Calculo de la cuenta.

Numero de leucocitos x corrección por vol.(2.5) x corrección por dilución(20).
Ejemplo: cuadro 1: 25, cuadro 2: 34, cuadro 3: 32, cuadro 4:31 = 122.
 $122 \times 2.5 \times 20 = 6,100$ leucos/microl.

Observaciones:

En cuentas superiores a 30,000 es recomendable usar una dilución mayor, para ello puede usarse una pipeta de glóbulos rojos (se carga la muestra hasta la marca de 1.0 y se diluye hasta 101, obteniendo una dilución 1:100). En caso de cuentas superiores a 100,000 se recomienda hacer una dilución 1:200. En caso de cuentas inferiores a 3,000 se recomienda hacer una dilución mayor (1:10).

Siempre que un diferencial reporte 5 o más eritrocitos nucleados por cada 100 leucos la cuenta de blancos debe corregirse.

Bibliografía

1. Hematology, principles and procedures. By Barbara A. Brown. Fifth edition, Lea & Febiger, 1988.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE INGENIERÍA, ARQUITECTURA Y DISEÑO
BIOINGENIERÍA



NOMBRE DE LA MATERIA	INMUNOLOGIA	CLAVE	19528
NOMBRE DE LA PRÁCTICA	GRUPO SANGUINEO ABO	PRÁCTICA NÚMERO	5
PROGRAMA EDUCATIVO	BIOINGENIERÍA	PLAN DE ESTUDIOS	2009-2

EQUIPO-HERRAMIENTA REQUERIDO	CANTIDAD
CENTRIFUGA SEROFUGA	1 POR EQUIPO

MATERIAL-REACTIVOS REQUERIDOS	CANTIDAD
TUBOS DE VIDRIO 13 X 100 o 12 X 75	1 CAJA
SOLUCION SALINA ISOTONICA 0.9%	1 FCO/BOLSA
PIPETAS TRANSFER	1 CAJA
ANTI-A	1 FCO
ANTI-AB	1 FCO
ANTI-B	1 FCO
SOLUCION LISS o ALBUMINA	1 FCO
GRADILLA PARA TUBOS	1 POR EQUIPO

SOFTWARE REQUERIDO	
OBSERVACIONES-COMENTARIOS	
Fecha de elaboración	Fecha de última actualización
Febrero 2015.	
Elaboró	
M. EN C. PEDRO VICTORIA PERALTA	Firma(s)
Revisó	
Miembro de Academia de Bioingeniería	Firma
Miembro de Academia de Bioingeniería	Firma
Miembro de Academia de Bioingeniería	Firma

Introducción

El sistema ABO fue descubierto por Karl Landsteiner en 1901, convirtiéndolo en el primer grupo sanguíneo conocido; su nombre proviene de los tres tipos de Ag que se identifican: el Ag A, el B y el "O". Las transfusiones de sangre entre grupos incompatibles pueden provocar una reacción inmunológica que puede desembocar en hemolisis, anemia, falla renal, shock y muerte.

El sistema ABO es el más importante con relación al tema de la transfusión sanguínea, el trasplante de células hematopoyéticas y el trasplante de órganos sólidos. Los antígenos de este sistema son carbohidratos que se hallan en la membrana de los eritrocitos, pero también están presentes en otros tejidos y en algunas personas incluso existen en forma soluble.

De acuerdo a la NOM-253 la clasificación del grupo ABO se deberá realizar en todos los donantes y receptores, mediante las pruebas de aglutinación siguientes:

- a) Grupo directo: permite identificar la presencia o ausencia de los antígenos A y B en los eritrocitos, mediante el empleo de reactivos hemoclasificadores anti-A, anti-B y anti-AB de origen monoclonal.
- b) Grupo inverso: permite identificar la presencia o ausencia de los anticuerpos regulares anti-A y anti-B en suero o plasma, utilizando eritrocitos con antígeno A1 y B, y en cada clasificación de grupo ABO se deberá incluir un control o testigo que incluya glóbulos rojos de la muestra estudiada y solución salina o el medio en el que se realice la suspensión globular, a fin de demostrar la ausencia de autoaglutinación.

El científico austriaco Karl Landsteiner recibió el Premio Nobel de Fisiología / Medicina por su trabajo de caracterización de los grupos sanguíneos ABO en 1930.

Competencia de la práctica

Analizar los fundamentos para la determinación del grupo sanguíneo.

Metodología

Grupo Directo

- Se prepara colocando una gota de suero hemoclasificador (anti-A, anti-B, anti-AB) al tubo correspondiente, y dos gotas del suero de la muestra en estudio al tubo autotestigo.
- Posteriormente se prepara una suspensión al 5% de los eritrocitos en estudio y se agrega a cada uno de los 4 tubos. Se mezcla suavemente y se centrifuga a 3 400 rpm durante 15 seg.
- Observar microscópicamente la aglutinación y anotar resultados.

Interpretación de Resultados:

Para la interpretación se deberá considerar el grado de aglutinación macroscópica de 0 a 4 cruces, que se relaciona con la intensidad de aglutinación del paquete de eritrocitos y con el color del sobrenadante. Observar el tubo inmediatamente después de la centrifugación, colocándolo en forma horizontal a la altura de los ojos y frente a una fuente de luz. El tubo se agitará suavemente desplazando la suspensión, con el objeto de observar adecuadamente el grado de aglutinación.

Grados de aglutinación:

No. de cruces	Botón	Sobrenadante
4+	Sólido único	Claro
3+	Un botón grande y varios pequeños	Claro
2+	Varios grumos medianos	Ligeramente rojo
1+	Grumos pequeños con eritrocitos libres	Rojo
Gr	Graniento: Escasos grumos muy pequeños como arenilla	Rojo
0	No se observa	Rojo

Interpretación de Resultados:

Anti-A	Anti-AB	Anti-B	Auto	Grupo
4+	4+	0	0	A
0	4+	4+	0	B
4+	4+	4+	0	AB
0	0	0	0	0

Grupo inverso:

- Se prepara colocando una gota de eritrocitos conocidos A₁, A₂, B y O al 5%, en tubos por separado.
- Agregar dos gotas del suero problema a cada tubo.
- Centrifugar a 3 400 rpm por 15 seg.
- Observar macroscópicamente las aglutinaciones e informarlas en número de cruces.

Interpretación:

Eritrocitos A ₁	Eritrocitos A ₂	Eritrocitos B	Eritrocitos O	Grupo
0	0	4+	0	A
4+	4+	0	0	B
0	0	0	0	AB
4+	4+	4+	0	0

Observaciones:

Esta prueba debe coincidir con la determinación del grupo directo, si no sucede se deberá investigar la causa. Si el autotestigo presenta aglutinación, la determinación del grupo se invalida. (Idealmente deberían utilizarse eritrocitos Rh negativos con el fin de evitar que la aglutinación pueda estar dada por anticuerpos irregulares al sistema Rh).

Frecuencia de grupos sanguíneos ABO en la población mexicana:

- O 70 %
- A 20 %
- B 7 %
- AB 1 %

Bibliografía

1. Norma Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012, para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos.
2. Technical Manual. 17th Ed. AABB, 2011.
3. Rossi's Principles of Transfusion Medicine, Edited by Toby L. Simon, E. L. Snyder, B. G. Solheim, Christopher, P. Stowell, Ronald, G. Strauss and Marian Petrides. 4th Ed. Blackwell Publishing, 2009.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE INGENIERÍA, ARQUITECTURA Y DISEÑO
BIOINGENIERÍA



NOMBRE DE LA MATERIA	INMUNOLOGIA	CLAVE	19528
NOMBRE DE LA PRÁCTICA	FACTOR Rh Y COOMBS	PRÁCTICA NÚMERO	6
PROGRAMA EDUCATIVO	BIOINGENIERÍA	PLAN DE ESTUDIOS	2009-2

EQUIPO-HERRAMIENTA REQUERIDO	CANTIDAD
CENTRIFUGA CLINCA O SEROFUGA	1 POR EQUIPO

MATERIAL-REACTIVOS REQUERIDOS	CANTIDAD
ANTI-D	1 FCO
SUERO DE COOMBS	1 FCO
TUBOS DE VIDRIO 13 X 100 o 12 X 75	1 CAJA
PIPETAS TRANSFER	1 CAJA
GASAS NO ESTERILES	1 PAQ
GRADILLA PARA TUBOS	1 POR EQUIPO
CONTROL DE Rh	1 FCO

SOFTWARE REQUERIDO	
OBSERVACIONES-COMENTARIOS	
Fecha de elaboración	Fecha de última actualización
Febrero 2015.	
Elaboró	
M. EN C. PEDRO VICTORIA PERALTA	Firma(s)
Revisó	
Miembro de Academia de Bioingeniería	Firma
Miembro de Academia de Bioingeniería	Firma
Miembro de Academia de Bioingeniería	Firma

Introducción

La identificación del antígeno D o factor Rh, se deberá realizar en los donantes y en los receptores, mediante las pruebas siguientes:

- a) Prueba de aglutinación directa: se emplea un reactivo anti D de origen monoclonal que contenga inmunoglobulinas M y G o sólo G en sus diferentes variantes que permita identificar la presencia o ausencia del antígeno D en los eritrocitos, y
- b) Prueba de antiglobulina humana: si la prueba de aglutinación directa referida en el inciso anterior resultase negativa, los glóbulos rojos deberán someterse a una prueba de antiglobulina humana (prueba de Coombs) para demostrar la presencia o ausencia del antígeno D expresado débilmente o sus variantes.

Cada una de las pruebas para la identificación del antígeno D, se deberá validar mediante una prueba de control, que permita demostrar la ausencia de aglutinación inespecífica.

Material biológico:

- 5 ml de sangre venosa del paciente.
- Eritrocitos conocidos Rh positivo (R1r) y Rh negativo (r), suspendidos al 5 % en su propio suero.
- Suero anti-D y suero control de Rh.

Competencia de la práctica

Analizar los fundamentos para la determinación del factor Rh hasta Coombs.

Metodología

Determinación del antígeno D (RhO):

- Deposite una gota de la suspensión de eritrocitos al 2-5 % en el propio suero del paciente en cuestión, en cada uno de dos tubos 12 x 75 mm, al primer tubo añada 2 gotas de suero anti-D albuminoso y al segundo dos gotas del suero control.
- Mezcle perfectamente y centrifugue 30 seg. (o el tiempo que señale el inserto del reactivo).
- Resuspenda nuevamente con movimientos pendulares y observa aglutinación. El tubo que contiene las células y el reactivo control representa el autotestigo y debe ser normalmente negativo, si no lo es debe averiguarse la causa.

Medidas de seguridad y de control:

Cotidianamente debe verificarse si el suero anti-D albuminoso está activo y es específico, llevando a cabo su control con los eritrocitos testigo Rh (D) Positivo y Rh (D) Negativo enviados por un Banco de Sangre o comerciales.

Si la reacción positiva es débil, debe cambiarse de reactivo anti-D e investigar la causa.

Células control	Suero anti-D	Autotestigo
Eritrocitos R1r	2+	0
Eritrocitos rr	0	0

Frecuencia en la población mexicana:

- Rh Positivo 97 %
- Rh Negativo 3 %

Determinación de la variante Du:

Cuando se determina el antígeno D (RhO), la reacción obtenida puede ser débil. Esto se ha explicado por la reducción de los sitios antigénicos, secundaria a interacción de genes como C en posición trans con respecto al cromosoma que lleva el D, o bien por la ausencia de una o varias de las cuatro partes del mosaico D. Para fines prácticos, cuando esto se observa en la muestra de sangre de un paciente, debe rotularse como Rh (D) variedad Du.

Si la muestra corresponde a un donador, se rotulará como la anterior y solo se transfundirá a pacientes RhO (D) positivos.

Técnica:

- Cuando el resultado de la prueba para determinar el antígeno RhO (D) es débilmente positivo o negativo, vuelva a montar la prueba en otro tubo.
- Incube ambos durante 30 min. a 37°C, incluya autotestigo.
- Centrifugue 30 seg. (o el tiempo que marque el inserto del reactivo) a 3 400 rpm.
- Lea y anote.
- Si la aglutinación se ha intensificado claramente, anótelo como variedad Du.
- Si después de centrifugar los tubos la lectura es negativa: lave los eritrocitos 3 veces con SSI al 0.9 % durante cuando menos 1.5 min.
- Seque los eritrocitos.
- Resuspéndalos suavemente.
- Agregue dos gotas de suero de Coombs.
- Centrifugue 30 seg. a 3 400 rpm.
- Si el resultado es positivo anótelo como variedad Du. Si es negativo anótelo como RhO(D) negativo. La variedad Du se considera como RhO (D) positivo.

Bibliografía

1. Norma Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012, para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos.
2. Technical Manual. 17th Ed. AABB, 2011.
3. Rossi's Principles of Transfusion Medicine, Edited by Toby L. Simon, E. L. Snyder, B. G. Solheim, Christopher, P. Stowell, Ronald, G. Strauss and Marian Petrides. 4th Ed. Blackwell Publishing, 2009.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE INGENIERÍA, ARQUITECTURA Y DISEÑO
BIOINGENIERÍA



NOMBRE DE LA MATERIA	INMUNOLOGIA	CLAVE	19528
NOMBRE DE LA PRÁCTICA	PRUEBAS DE COMPATIBILIDAD	PRÁCTICA NÚMERO	7
PROGRAMA EDUCATIVO	BIOINGENIERÍA	PLAN DE ESTUDIOS	2009-2

EQUIPO-HERRAMIENTA REQUERIDO	CANTIDAD
BAÑO MARIA A 37 GRADOS C.	1
CENTRIFUGA CLINICA o SEROFUGA	1 POR EQUIPO

MATERIAL-REACTIVOS REQUERIDOS	CANTIDAD
PIZETA CON SOLUCION SALINA ISOTONICA	1
SOLUCION LISS o ALBUMINA AL 22%	1 FCO
TUBOS 13 X 100 o 12 X 75 mm	1 CAJA
SUERO DE COOMS	1 FCO
GRADILLA PARA TUBOS	1 POR EQUIPO
PIPETAS TRANSFER	1 CAJA

SOFTWARE REQUERIDO	
OBSERVACIONES-COMENTARIOS	
Fecha de elaboración	Fecha de última actualización
Febrero 2015.	
Elaboró	
M. EN C. PEDRO VICTORIA PERALTA	Firma(s)
Revisó	
Miembro de Academia de Bioingeniería	Firma
Miembro de Academia de Bioingeniería	Firma
Miembro de Academia de Bioingeniería	Firma

Introducción

Prueba de compatibilidad: estudio practicado *in vitro* empleando muestras de sangre del donante y del receptor, para comprobar la existencia de afinidad inmunológica recíproca entre las células del uno y el suero del otro, para efectos transfusionales. El objetivo de realizar las pruebas cruzadas de compatibilidad, es investigar la presencia de anticuerpos específicos activos a 37 grados C, en el suero del paciente contra los eritrocitos del donador, y viceversa.

La prueba cruzada se divide en tres etapas:

- 1.- La prueba mayor que contiene el suero del paciente y eritrocitos del donador "D".
- 2.- La prueba menor que contiene el suero del donador y eritrocitos del receptor "R".
- 3.- El autotestigo que contiene el suero del y eritrocitos del paciente.

Una prueba cruzada es compatible cuando no se observa ni aglutinación, ni hemólisis a 37 grados C., en ninguna de las tres pruebas anteriores

Material biológico:

- Sangre del donador. Todas las bolsas para transfusión llevan segmentos de tubo de plástico representativos de la sangre que esta en la bolsa (sangre anticoagulada con CPD-adenina).
- Sangre del receptor. De 5 a 10 ml de sangre fresca sin anticoagulante, en un tubo rotulado con el nombre completo del enfermo. También puede utilizarse muestra con EDTA.

Competencia de la práctica

Conocer el fundamento teorico y practico de una prueba de compatibilidad.

Metodología

Preparación de los reactivos:

- Centrifugue el tubo del receptor de 2-3 min a 3,500 rpm para separar completamente el suero de los eritrocitos del coagulo.
- Corte un segmento del tubo piloto de la bolsa de sangre y transfiera todo el contenido a un tubo de 12 x 75 mm.
- Coloque una gota de sangre en otro tubo 12 x75 y llénelo hasta el borde con SSI. Centrifugue ambos por 3 min a 3,500 rpm. Deseche el sobrenadante de solución salina y resuspenda los eritrocitos al 2-5% con SSI. Este tubo contiene los eritrocitos lavados del donador. El primero contiene plasma y eritrocitos con el anticoagulante de la bolsa.
- Siempre es necesario lavar los eritrocitos de las unidades con SSI (hasta x 3), no los del paciente si la muestra es reciente.

Prueba cruzada:

- Preparar dos series de tubos: prueba mayor, menor y autotestigo, en proporción de dos gotas de suero/plasma por una de eritrocitos. Agregar dos gotas de LISS o de albúmina a la serie correspondiente.
- Mezcle perfectamente el contenido de los tubos y centrifugue 20 seg. A 3,500 rpm la serie salina, y 30 seg la serie con albúmina o LISS.
- Lea los resultados y anótelos.
- Si alguno de los tubos muestra aglutinación o hemólisis, debe rectificarse de inmediato el grupo sanguíneo ABO de la sangre del receptor y del donador.
- NOTA: Si el Rh del receptor es negativo, es obligatorio ratificar el grupo y Rh del donador, rotulado como Rh negativo antes de cruzar la unidad.
- Coloque los tubos de la serie salina a 37 grados durante 30 min y la serie con LISS a 37 grados durante 10-15 min.
- Después vuelva a centrifugar, lea los resultados y anótelos.
- Si se observa aglutinación o hemólisis, la prueba es incompatible. Si el resultado es negativo:
- Lave los tubos 3 veces con SSI por 3 min., después del tercer lavado seque bien los tubos.
- Resuspenda el botón y agregue dos gotas del suero de Coombs.
- Mezcle y vuelva a centrifugar por 30 seg.
- Lea el resultado y anótelos. Si observa aglutinación la prueba es incompatible.
- Si el resultado es negativo agregue dos gotas de células control de Coombs y centrifugue durante 30 seg. Lea el resultado y anótelos. Se espera aglutinación con las células control.

Reporte esperado: COMPATIBLE.

Medidas de seguridad y control: Los reactivos que se emplean deben controlarse cotidianamente con células y sueros testigos antes de efectuar las pruebas cruzadas.

Bibliografía

1. Norma Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012, para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos.
2. Technical Manual. 17th Ed. AABB, 2011.
3. Rossi's Principles of Transfusion Medicine, Edited by Toby L. Simon, E. L. Snyder, B. G. Solheim, Christopher, P. Stowell, Ronald, G. Strauss and Marian Petrides. 4th Ed. Blackwell Publishing, 2009.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE INGENIERÍA, ARQUITECTURA Y DISEÑO
BIOINGENIERÍA



NOMBRE DE LA MATERIA	INMUNOLOGIA	CLAVE	19528
NOMBRE DE LA PRÁCTICA	AVIDEZ Y ESPECIFICIDAD	PRÁCTICA NÚMERO	8
PROGRAMA EDUCATIVO	BIOINGENIERÍA	PLAN DE ESTUDIOS	2009-2

EQUIPO-HERRAMIENTA REQUERIDO	CANTIDAD
CENTRIFUGA CLINICA o SEROFUGA	1 POR EQUIPO
CRONOMETRO	1 POR EQUIPO
LAMPARA o NEGATOSCOPIO	1 POR EQUIPO

MATERIAL-REACTIVOS REQUERIDOS	CANTIDAD
PLACAS DE VIDRIO	1 POR EQUIPO
APLICADORES DE MADERA	1 CAJA
TUBOS DE VIDRIO 13 X 100 o 12 X 75	1 CAJA
PIPETA DE 100 MICROL.	1 POR EQUIPO
PUNTAS AMARILLAS	1 BOLSA
GRADILLA	1 POR EQUIPO
PIPETAS TRANSFER	1 CAJA

SOFTWARE REQUERIDO	
OBSERVACIONES-COMENTARIOS	
Fecha de elaboración	Fecha de última actualización
Febrero 2015.	
Elaboró	
M. EN C. PEDRO VICTORIA PERALTA	Firma(s)
Revisó	
Miembro de Academia de Bioingeniería	Firma
Miembro de Academia de Bioingeniería	Firma
Miembro de Academia de Bioingeniería	Firma

Introducción

Los reactivos son los elementos más importantes para llevar a cabo las pruebas que se realizan en inmunohematología y éstas serán tan exactas como lo sean los reactivos. Casi todos ellos son de origen animal o humano, con frecuencia se utilizan mezclas de varias muestras y todos tienen viabilidad biológica. Por tal motivo, las reacciones en donde se empleen estos materiales, deben ser vigiladas continuamente para asegurar la consistencia, sensibilidad y exactitud, lo que se logra con una vigilancia en el control de calidad de los reactivos. Para verificar el funcionamiento adecuado de los reactivos, éstos deberán ser probados en forma regular, empleando muestras representativas de cada lote y con la periodicidad que indica la NOM-253.

Competencia de la práctica

Determinar la avidéz y especificidad de antisueros conocidos.

Metodología

Prueba de avidéz:

1. Etiquetar cuidadosamente.
2. Poner sobre una placa de vidrio una gota del antisuero a probar y lo más cercano posible una gota de células según le corresponda, cuidando que no se junten.

Pasos a seguir:

ANTI-A:

- 1 gota de suero anti-A más 1 gota de células A1.
- 1 gota de suero anti-A más 1 gota de células A2.
- 1 gota de suero anti-A más 1 gota de células A2B.

ANTI-A1 LECTINA:

- 1 gota de Suero anti-A1 Lectina más 1 gota de células A1.

ANTI-B:

- 1 gota de suero anti-B más 1 gota de células B.

ANTI-AB:

- 1 gota de suero anti-AB más 1 gota de células A1.
- 1 gota de suero anti-AB más 1 gota de células A2.
- 1 gota de suero anti-AB más 1 gota de células B.
- 1 gota de suero anti-AB más 1 gota de células A2B.

3. Mezclar las dos gotas con la ayuda de un palillo.
4. Poner en marcha el cronómetro inmediatamente después de iniciar el mezclado.
5. Parar el cronómetro en el momento que la reacción inicia.
6. Esperar un minuto como máximo para cada reacción.
7. Registrar el tiempo de reacción.

ANTISUERO A	CELULAS	t _{max} DE REACCION
Anti-A	A1	15 segundos (*)
	A2	20 segundos (*)
	A1B	15 segundos (*)
	A2B	30 segundos (*)
Anti-A1 Lectina	A1	30 segundos
Anti-B	B	15 segundos (*)
Anti-AB	A1	15 segundos (*)
	A2	20 segundos (*)
	B	15 segundos (*)

(*) NOM

La pruebas de avidéz se realizarán de rutina a los antisueros en uso diariamente antes de empezar a trabajar y a una muestra de antisuero de cada nuevo lote que llegue.

Prueba de especificidad:

1. Etiquetar cuidadosamente.
2. Colocar sobre una placa de vidrio las gotas de los sueros y lo más cercano posible a cada una agregar las gotas de las células que a continuación se indica:

ANTI-A:

-
- 5 gotas de suero anti-A
- 1 gota de células A1
- 1 gota de células A2
- 1 gota de células B
- 1 gota de células O
- 1 gota de células AB

ANTI-A1 LECTINA:

- 2 gotas de Suero anti-A1 lectina
- 1 gota de células A1
- 1 gota de células A2

ANTI-B:

- 4 gotas de suero anti-B
- 1 gota de células A1
- 1 gota de células A2
- 1 gota de células B
- 1 gota de células O

ANTI-AB:

- 2 gotas de suero anti-AB
- 1 gota de células A1
- 1 gota de células A2
- 1 gota de células B
- 1 gota de células O
- 1 gota de células AB

3. Homogenizar las gotas de suero con cada una de las células utilizando palillos diferentes para cada uno.
4. Observar la reacción y anotar resultados.
5. Valores de referencia.

	A1	A2	B	O	A2B
Anti-A	+	+	-	-	+
Anti-A1 Lectina	+	-	-	-	-
Anti B	-	-	+	-	+
Anti-AB	+	+	+	-	+

Ésta prueba de especificidad también se puede hacer en tubo, para lo cual en lugar de utilizar placa de vidrio, las gotas de los reactivos se colocan en tubos 10 x 75 mm y etiquetándolos correctamente. Centrifugar todos los tubos a 3 400 rpm durante 15 seg.

Observar la reacción y anotar los resultados.

La prueba de especificidad se realizará diariamente a los antisueros de rutina, antes de empezar a trabajar y a una muestra de antisueros de cada lote nuevo que llegue.

Bibliografía

1. Norma Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012, para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos.
2. Technical Manual. 17th Ed. AABB, 2011.
3. Rossi's Principles of Transfusion Medicine, Edited by Toby L. Simon, E. L. Snyder, B. G. Solheim, Christopher, P. Stowell, Ronald, G. Strauss and Marian Petrides. 4th Ed. Blackwell Publishing, 2009



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE INGENIERÍA, ARQUITECTURA Y DISEÑO
BIOINGENIERÍA



NOMBRE DE LA MATERIA	INMUNOLOGIA	CLAVE	19528
NOMBRE DE LA PRÁCTICA	TITULACION DE ANTICUERPOS	PRÁCTICA NÚMERO	9
PROGRAMA EDUCATIVO	BIOINGENIERÍA	PLAN DE ESTUDIOS	2009-2

EQUIPO-HERRAMIENTA REQUERIDO	CANTIDAD
CENTRIFUGA CLINICA o SEROFUGA	1 POR EQUIPO

MATERIAL-REACTIVOS REQUERIDOS	CANTIDAD
TUBOS DE VIDRIO 13 X 100 o 12 X 75	1 CAJA
PUNTAS AMARILLAS	1 BOLSA
PIPETA MECANICA DE 100 MICROL.	1 POR EQUIPO
SOLUCION SALINA ISOTONICA 0.9%	1 FCO
GASA NO ESTERIL	1 PAQ

SOFTWARE REQUERIDO	
OBSERVACIONES-COMENTARIOS	
Fecha de elaboración	Fecha de última actualización
Febrero 2015.	
Elaboró	
M. EN C. PEDRO VICTORIA PERALTA	Firma(s)
Revisó	
Miembro de Academia de Bioingeniería	Firma
Miembro de Academia de Bioingeniería	Firma
Miembro de Academia de Bioingeniería	Firma

Introducción

Los reactivos son los elementos más importantes para llevar a cabo las pruebas que se realizan en inmunohematología y éstas serán tan exactas como lo sean los reactivos. Casi todos ellos son de origen animal o humano, con frecuencia se utilizan mezclas de varias muestras y todos tienen viabilidad biológica. Por tal motivo, las reacciones en donde se empleen estos materiales, deben ser vigiladas continuamente para asegurar la consistencia, sensibilidad y exactitud, lo que se logra con una vigilancia en el control de calidad de los reactivos.

Competencia de la práctica

Determinar el título de Ac a partir de antisueros comerciales.

Metodología

Etiquetar todos los tubos correctamente.

ANTI-A:

- Preparar tres series de 10 tubos.
- Agregar 0.1 ml de solución salina a cada uno de los tubos de las tres series.
- Colocar 0.1 ml de suero anti-A al primer tubo de cada serie y mezclar bien.
- Para realizar la dilución en serie, a los nueve tubos restantes, transferir 0.1 ml del 1er tubo al 2do tubo y mezclar, transferir 0.1 ml del 2do al 3ro y mezclar, nuevamente transferir 0.1 ml del 3ro al 4to y así sucesivamente hasta el décimo tubo, quedando una dilución de:
 - 1) 1:2
 - 2) 1:4
 - 3) 1:8
 - 4) 1:16
 - 5) 1:32
 - 6) 1:64
 - 7) 1:128
 - 8) 1:256
 - 9) 1:512
 - 10) 1:1024
- A la serie 1 agregar 1 gota de suspensión celular al 5% células A1 a cada tubo.
- A la otra serie agregar 1 gota de suspensión celular al 5% de células A2 a cada tubo.
- A otra serie agregar células al 5% AB a cada tubo.
- Centrifugar todos los tubos a 3 400 rpm durante 30 segundos.
- Agitar suavemente el tubo para desprender el botón celular.
- Anotar los resultados con el sistema de 0 a 4 cruces, leer los tubos empezando por la dilución mayor.

ANTI-A1 LECTINA:

- La titulación de este suero es casi igual al suero anti-A con la diferencia de que en el 3er paso se utiliza suero anti-A1 lectina y de igual manera se le agregan células A1.

ANTI-B:

- Preparar una serie de 10 tubos.
- Agregar 0.1 ml de solución salina a cada tubo.
- Colocar 0.1 ml de suero anti-B al primer tubo y mezclar bien.
- Repetir los pasos igual que el anterior.
- Agregar una gota de suspensión celular al 5% de células B a cada tubo.

ANTIAB:

- Preparar cuatro series con 10 tubos cada uno.
- Agregar 0.1 ml de solución salina a cada uno de los tubos de las 4 series.
- Colocar 0.1 ml de suero anti AB al primer tubo de cada serie y mezclar bien.
- Repetir los pasos descritos en el 4to punto del Anti-A.
- Agregar a la primera serie de 10 tubos, una gota de suspensión celular al 5% de células A1 a cada tubo y a la otra serie, una gota de suspensión celular al 5% de células A2 a cada tubo, a la tercera serie agregar células B2 y a la última agregar células AB.
- Centrifugar todos los tubos a 3 400 rpm durante 30 seg. para obtener un buen botón celular.
- Agitar suavemente el tubo para desprender el botón celular y observe, anotando las reacciones con el sistema de 0 a 4 cruces. Leer los tubos empezando con la dilución mayor.
- Valores de referencia:

Suero	Grupo o Subgrupos Sanguíneos	Título _{max} aceptable
Anti -A	A1	1:256 (*)
	A2	1:128 (*)
	A1B	1:128 (*)
	A2B	1:64
Anti-A1 Lectina	A1	1:64
Anti-B	B	1:256 (*)
Anti-AB	A1	1:256 (*)
	B	1:256 (*)
	A2	1:128 (*)
	A2B	1:64

(*) NOM

La titulación se hará a una muestra de antisuero de cada nuevo lote que llegue, reactivos caducados y a aquellos que hayan sufrido cambios bruscos de temperatura.

NOTA: Los antisueros que no cumplan con la titulación mínima aceptable que marca la NOM, deberán ser dados de baja

Bibliografía

1. Norma Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012, para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos.