GUÍA NACIONAL

DE CONTROL DE CALIDAD DE SANGRE Y COMPONENTES SANGUÍNEOS.

México, 30 junio de 2023.
Primera versión.

SALUD
SECRETARÍA DE SALUD

Transfusión Sanguínea
CENTRO NACIONAL DE LA TRANSFUSIÓN SANGUÍNEA

Guía Nacional de Control de Calidad de Sangre y Componentes Sanguíneos

Primera versión.
30 de junio de 2023.

Guía Nacional de Control de Calidad de Sangre y Componentes Sanguíneos.

Primera versión, 2023.

Centro Nacional de Transfusión Sanguínea, Secretaría de Salud.

Hecho en México / Made in Mexico

Edición Digital / Digital Edition

Se permite la reproducción total o parcial, sin fines comerciales, citando la fuente.

Sugerencia de cita:
Secretaría de Salud. Centro Nacional de Transfusión Sanguínea. Guía Nacional de Control de Calidad de Sangre y Componentes Sanguíneos. México; 2023.

Para referencia se puede revisar el documento en:
https://www.gob.mx/salud/cnts

1. Índice

1. Índice 4
2. Grupo de expertos desarrolladores de la Guía. 6
3. Antecedentes. 8
4. Objetivo. 10
5. Consideraciones para empleo de esta Guía. 10
6. Glosario de términos y abreviaturas. 12
7. Tabla de conversiones y equivalencias de unidades del sistema internacional de medidas. 13
9. Capítulo 1. 14
- Cálculos matemáticos básicos. 14
- Diluciones. 22
- Muestreo estadístico para control de calidad de sangre y componentes sanguíneos. 25
- Determinación de volumen. 28
- Cálculos para hemoglobina y hematocrito en sangre y componentes sanguíneos. 31
- Cuantificación de células de la sangre en componentes sanguíneos. 33
- Determinación de pH. 38
- Determinación de hemólisis. 42
- Determinación de proteínas totales. 45

10. Capítulo 2. 47
- Sangre Total 47

11. Capítulo 3. 50
- Concentrado eritrocitario de sangre total. 50

12. Capítulo 4. 55
- Plasma fresco, plasma desprovisto de factores lábiles y crioprecipitado. 55

13. Capítulo 5. 63
- Concentrado Plaquetario. 63

14. Capítulo 6. 69

- Leucocitos Residuales en Procesos de Leucodepleción. 69

15. Capítulo 7. 72

- Control de calidad microbiológico 72
- Control de calidad y verificación del proceso de asepsia. 74
- Sangre total 77
- Concentrado eritrocitario 78
- Plasmas y crioprecipitados 79
- Concentrado de plaquetas 79

16. Capítulo 8. 80

- Control estadístico de proceso. 80
- Implementación del control estadístico de proceso (CEP). 81
- Estrategia para el muestreo estadístico en el CEP. 81
- Frecuencia de muestreo del control. 82
- Métodos de CEP. 84

17. Capítulo 9. 90

- Gestión de riesgos en el control de calidad de sangre y componentes sanguíneos. 90

18. Capítulo 10. 96

- Subrogación de pruebas de control de calidad en control de calidad. 96

19. Anexo. 100

- Centrifugación de muestras. 100

2. Grupo de expertos desarrolladores de la Guía.

CENTRO NACIONAL DE TRANSFUSIÓN SANGUÍNEA

DR. JORGE ENRIQUE TREJO GÓMORA	**CENTRO NACIONAL DE TRANSFUSIÓN SANGUÍNEA**
QFI. JOSÉ ANTONIO ARROYO PÉREZ	
EBC. ILSE RAMOS LAGUNES	

CENTROS ESTATALES DE LA TRANSFUSIÓN SANGUÍNEA

DR. C. ASIEL ARCE SILLAS	**CENTRO ESTATAL DE LA TRANSFUSIÓN SANGUÍNEA DE BAJA CALIFORNIA SUR**
DRA. MELISSA SU GRANADOS GÓMEZ	
MTRO. FERNANDO AGUIRRE PUGA	
DR. MARTÍN VELÁZQUEZ GÓMEZ	**CENTRO ESTATAL DE LA TRANSFUSIÓN SANGUÍNEA DE CHIAPAS**
QFB. MARIO ALBERTO OROZCO VÁZQUEZ	
DRA. MIREYA LETICIA PORTILLO GARCÍA	**CENTRO ESTATAL DE LA TRANSFUSIÓN SANGUÍNEA DE CHIHUAHUA**
DRA. PATRICIA ARACELI DE LA MORA LÓPEZ	**CENTRO ESTATAL DE LA TRANSFUSIÓN SANGUÍNEA DE JALISCO**
QFB. ARMANDO BENJAMÍN GODÍNEZ GUZMÁN	
QFB. XÓCHITL JANETT CACHÓN	**CENTRO ESTATAL DE LA TRANSFUSIÓN SANGUÍNEA DE QUINTANA ROO**
QFB. GLADYS VIANEY LÓPEZ	
DRA. KARINA CANCHÉ MENA	**CENTRO ESTATAL DE LA TRANSFUSIÓN SANGUÍNEA DE YUCATÁN**

INSTITUTOS NACIONALES DE SALUD

DRA. ALICIA BELEM LÓPEZ VICTORIA	**HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO "FEDERICO GÓMEZ"**
QFB. AZUCENA JIMÉNEZ DOMÍNGUEZ	
QC. NATALIE LUCIA SALAZAR PANEZ	
ING. FERNANDO CEDILLO VALLE	
DRA. ANA MARÍA MEJÍA DOMÍNGUEZ	**INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA "IGNACIO CHÁVEZ"**
QC. EMMANUEL HERNÁNDEZ GARZÓN	
QFB. ROBERTO E. JALOMA AVENDAÑO	**INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA**

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

DR. LAZARO VICTOR MARTÍNEZ HERNÁNDEZ	**CENTRO MÉDICO NACIONAL DE OCCIDENTE DEL INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**
DR. EN C. JOSÉ DE JESÚS GUERRERO GARCÍA	**CENTRO MÉDICO NACIONAL DE OCCIDENTE DEL INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**
DRA. MARIA DE LAS MERCEDES SOLANO RICARDI	**UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD NO. 34 DEL INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**
QFB. GABRIELA GRIMALDO HERNÁNDEZ	**UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD NO. 34 DEL INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**

INSTITUCIONES ACADÉMICAS

M. EN C. JESÚS MIRANDA BONILLA	**ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**

CIUDADANIA PROFESIONALIZADA

DRA. LILIA RODRÍGUEZ SÁNCHEZ	**OBSERVADOR CIUDADANO**

3. Antecedentes.

De acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012, para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos, el sistema de calidad se define como un conjunto de políticas, objetivos, procesos, documentos y recursos que conducen a asegurar la calidad, no sólo del producto sino de la organización considerándolo como un todo. En el caso de los servicios de sangre, la implementación de un sistema de calidad sirve como instrumento para cumplir con:

1. Aspectos regulatorios (requerimiento de la autoridad sanitaria).
2. Aspectos económicos (aumentar la eficiencia para reducir los costos).
3. Aspectos promocionales (incrementar la satisfacción del cliente).
4. Aspectos legales (consolidar la reputación profesional).

El control de calidad de componentes sanguíneos, se refiere a las técnicas y actividades periódicas de carácter operativo llevadas a cabo para asegurar el cumplimiento de los parámetros establecidos para la elaboración de los componentes sanguíneos obtenidos por procesamiento en los bancos de sangre de conformidad con la Norma Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012, Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos; dichas actividades evalúan, desde el inicio del proceso de producción todos los pasos involucrados en los procedimientos de obtención de sangre total y de los componentes sanguíneos, entre ellos se encuentran:

1. Aplicación de los criterios de selección de los donantes.
2. Modelos de recolección.
3. Modelos de procesamiento.
4. Almacenamiento.
5. Transporte.
6. Funcionamiento de los equipos.
7. Capacidad técnica del personal y efectividad de la capacitación.

Esta Guía se basa en la revisión de estándares, guías internacionales y en la normativa mexicana vigente para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos. La Guía consiste en una serie de recomendaciones que parten de un consenso de un grupo colegiado de profesionales de la salud, con experiencia probada en el campo de laboratorio de banco de sangre y en el procesamiento de unidades de componentes sanguíneos; la cual es susceptible de actualización y evolución continua.

La Guía surge a partir de la necesidad de unificar los conceptos dentro de los bancos de sangre y servicios de transfusión respecto del control de calidad de componentes sanguíneos, al ser este, una herramienta de cumplimiento obligatorio, de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012, Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos; en el que hoy día aún existen diversas dudas sobre frecuencia de realización, metodologías a emplear para diferentes analitos, criterios de aceptación, parámetros de referencia mínimos para cada uno de los componentes sanguíneos y métodos opcionales de medición; de manera que, la correcta aplicación de los criterios plasmados en esta Guía permitirán la obtención de componentes sanguíneos de mayor calidad y seguridad posible en bancos de sangre y servicios de transfusión, sin olvidar la estandarización en el Sistema Nacional de Salud, respecto del control de calidad en materia de elaboración de componentes sanguíneos.

Con esta Guía, de forma adicional se da seguimiento al *Programa de Acción Específico "Acceso universal a sangre hemocomponentes y células troncales hematopoyéticos seguros*"; de forma puntual al *Objetivo prioritario 4. Actualizar las políticas y estrategias que garanticen el adecuado uso terapéutico de la sangre y células progenitoras*, puntualmente a la acción denominada: *Evaluación y formación en el desempeño técnico de los servicios de sangre.*

4. Objetivo.

Establecer las directrices para realizar un adecuado control de calidad de la sangre total y los componentes sanguíneos, en los bancos de sangre del Sistema Nacional de Salud.

5. Consideraciones para empleo de esta Guía.

Se deberán considerar los siguientes puntos, para la aplicación correcta de la presente Guía, con el fin de evitar confusiones para el personal responsable del control de calidad de los componentes sanguíneos.

1. Las especificaciones mínimas de calidad a cumplir en México para cada componente sanguíneo se encuentran disponibles en la Norma Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012, Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos.
2. Las recomendaciones internacionales actuales, refieren que la frecuencia del control de calidad está dada por la regularidad con la que los componentes sanguíneos son producidos y el grado de cumplimiento de los parámetros de calidad especificados en la Norma Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012, para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos. Si los resultados del control de calidad evidencian incumplimiento de los parámetros establecidos, la frecuencia de dicho control debe ser aumentada de acuerdo con un análisis de riesgo definido hasta que el proceso demuestre estar bajo control.
3. Cualquier técnica utilizada para monitorear la calidad de los componentes sanguíneos, debe contar con una verificación documentada antes de su implementación en el banco de sangre.
4. Los resultados del control de calidad de componentes sanguíneos deben estar sujetos a un análisis estadístico de proceso, de manera que sea posible identificar tendencias de comportamiento, si los análisis de los resultados muestran tendencias hacia el incumplimiento de los parámetros establecidos, se deberá realizar el análisis de riesgo respectivo y el responsable sanitario deberá tomar las acciones correctivas determinadas y documentar su cumplimiento.
5. El análisis de riesgo debe incluir al menos: la evaluación de selección del donante, los procedimientos de extracción, procesamiento y almacenamiento de los componentes sanguíneos y el mantenimiento de todos los equipos involucrados en el proceso de producción y almacenamiento.

6. Todos los componentes sanguíneos deben ser inspeccionados visualmente, en cada etapa del procesamiento e inmediatamente antes de ser distribuidos, debiendo documentar un hallazgo fuera de especificación y dar seguimiento al mismo, a través del sistema de gestión de calidad.
7. Cuando las mediciones del control de calidad sean realizadas por terceros (aquellas personas autorizadas por la Secretaría para operar técnicamente, y que podrán emitir un resultado de una prueba analítica, respecto del cumplimiento de parámetros establecidos por la propia Secretaría o en las normas correspondientes), estos deben ser evaluados como proveedores dentro de lo exigido en las normas mediante las cuales está estructurado el Sistema de Gestión de Calidad, conforme a lo declarado en el capítulo establecido en la presente guía.

6. Glosario de términos y abreviaturas.

I. **BC:** buffy coat o capa leucoplaquetaria.
II. **CCINSHAE:** Comisión Coordinadora de Institutos Nacionales de Salud y Hospitales de Alta Especialidad.
III. **CC:** Control de Calidad.
IV. **CE:** Concentrado eritrocitario.
V. **CETS:** Centro Estatal de la Transfusión Sanguínea.
VI. **CLSI**: Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio, por sus siglas en inglés.
VII. **CNTS:** Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea.
VIII. **COFEPRIS:** Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios.
IX. **COVID-19:** Enfermedad causada por el virus SARS-CoV-2.
X. **CP**: Concentrado Plaquetario.
XI. **DVA**: Donación voluntaria y altruista.
XII. **DVAS**: Donación voluntaria y altruista de sangre.
XIII. **g:** Fuerza g o gravedades
XIV. **GR:** Glóbulos rojos
XV. **Hb**: Hemoglobina.
XVI. **Hto**: Hematocrito.
XVII. **IMSS:** Instituto Mexicano del Seguro Social.
XVIII. **ISSSTE:** Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado.
XIX. **NAT:** Detección de ácidos nucleicos, por sus siglas en inglés.
XX. **NOM 253:** NORMA Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012, Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos.
XXI. **OMS:** Organización Mundial de la Salud.
XXII. **OPS:** Organización Panamericana de la Salud.
XXIII. **PEMEX:** Petróleos Mexicanos.
XXIV. **SI:** Sistema Internacional de Medidas.
XXV. **SGC:** Sistema de Gestión de Calidad
XXVI. **SEDENA:** Secretaría de la Defensa Nacional.
XXVII. **SEMAR:** Secretaría de Marina.
XXVIII. **SS:** Secretaría de Salud.
XXIX. **ST:** Sangre Total

7. Tabla de conversiones y equivalencias de unidades del sistema internacional de medidas.

UNIDADES FUNDAMENTALES DEL SI

Cantidad Física	Nombre de la unidad	Símbolo
longitud	metro	m
masa	kilogramo	kg
tiempo	segundo	s
temperatura	Kelvin	K
cantidad de sustancia	mol	mol
corriente eléctrica	amperio	A
intensidad luminosa	candela	cd

PREFIJOS DEL SI

Factor	Prefijo	Símbolo	Factor	Prefijo	Símbolo
10^{1}	deca	da	10^{-1}	deci	d
10^{2}	hecto	h	10^{-2}	centi	c
10^{3}	kilo	k	10^{-3}	mili	m
10^{6}	mega	M	10^{-6}	micro	μ
10^{9}	giga	G	10^{-9}	nano	n
10^{12}	tera	T	10^{-12}	pico	p
			10^{-15}	femto	f

9. Capítulo 1.

- Cálculos matemáticos básicos.

Cálculos matemáticos básicos.

Las operaciones que son realizadas en el laboratorio de control de calidad son parte fundamental para obtener resultados confiables, por lo tanto, es necesario realizarlos correctamente; por lo que en este capítulo se hará referencia a las operaciones matemáticas básicas más utilizadas.

Elevación a la potencia y sus operaciones inversas.

La operación matemática más utilizada en el control de calidad de componentes sanguíneos es la ***potenciación*** o ***elevación a la potencia*** que por definición se trata de una operación binaria que da lugar a distintas estructuras algebraicas (1), en el cual se definen dos términos denominados: base (a) y exponente (n): a exp n, y tiene por objeto hallar las potencias de un número (1). Por ejemplo: 5^2= 5 x 5 = 25, 6^3= 6 x 6 x 6 =216.

La potencia de un número por definición es el resultado de multiplicarlo como factor dos o más veces, por ejemplo, el número 9 es una potencia de 3, ya que, 3 x 3 = 9, 25 es una potencia de 5, debido a que 5 x 5 = 25 o 64 es una potencia de 4, por, 4 x 4 x 4 = 64.

Como se muestra en los ejemplos anteriores el número que se multiplica por sí mismo se llama ***base de la potencia*** y para la notación se debe escribir un número pequeño a la derecha y como superíndice de la base que se llama ***exponente***, que nos indica las veces que la base se repite como factor. De tal forma que la enésima potencia de un número es el resultado de tomarlo como factor n veces. A^n = A x A x A x A . . . . . n veces

Cálculo logarítmico

La definición de logaritmo de un número con relación a otro llamado base, es el ***exponente*** al que hay que elevar la ***base*** para que se obtenga dicho número (1), considerando el ejemplo del inciso 1, si tenemos que, 3^2=9, el número 2 es el exponente al que hay que elevar la base 3 *(3 x 3)* para que obtengamos el resultado 9, por lo que, el número 9 es el logaritmo de la base 3 y se coloca como subíndice de la abreviación Log (logaritmo) y que se expresa de la siguiente forma:

$Log_3\ 9 = 2 \therefore 3^2=9$

Considerando otro ejemplo:

$25 = 5 \times 5$; se expresa así: $Log_5\ 25 = 3 \therefore 5^3 = 25$

Ésta es una nomenclatura no muy utilizada en los laboratorios de control de calidad, los logaritmos más usados son los de base 10 y se denominan ***logaritmos vulgares***. En éstos el superíndice es 10 y se omite, de modo que cuando no hay superíndice se sobreentiende que la base es 10, de tal forma que:

$10^0 = 1$

$10^1 = 10$

$10^2 = 100$

$10^3 = 1000$

$10^4 = 10,000$

Etc.

Fracciones decimales.

En ocasiones debemos trabajar utilizando un ***quebrado*** o como comúnmente se conoce, ***número fraccionario***, que por definición es el número que expresa una o varias partes iguales de la unidad principal. Si la unidad se divide en dos partes iguales, estas partes se llaman medios, si es en tres partes iguales serán tercios, etc.; un quebrado consta de dos términos, llamados **numerador** y **denominador.**

En términos prácticos el denominador indica en cuántas partes iguales se ha dividido la unidad principal, y el numerador, cuántas de esas partes se toman, por ejemplo: $\frac{2}{3}$ donde el 2 corresponde al numerador y el 3 al denominador, que indica que, se toman 2 de 3 partes en los que se ha dividido la unidad.

Por otro lado existen ***fracciones decimales*** que se denominan así debido a que el denominador es la unidad seguida de ceros, y son las más empleadas, se escriben como se muestra en los siguientes ejemplos: $\frac{3}{10}$, $\frac{17}{100}$, $\frac{31}{1000}$, etc., este tipo de notación al momento de hacer los cálculos resulta complicado, por lo que, se utiliza la ***notación decimal*** que resulta ser una ***fracción decimal***, para

ello se sigue el principio fundamental de la numeración decimal escrita, esto significa que toda cifra escrita a la derecha de otra representa diez veces menor que la anterior.

De tal forma que: $\frac{3}{10}$ = 0.3, $\frac{17}{100}$ = 0.17 y $\frac{31}{1000}$ = 0.031.

Para escribir una ***fracción decimal*** seguir la siguiente regla: escribir la parte entera si existe, y en caso de que no haya, escribir un cero y a continuación la cifra decimal, teniendo cuidado de que cada una ocupe el lugar que le corresponde, como se muestra a continuación:

$\frac{1340}{1000}$ = 1.34

Ahora bien, surge la pregunta ¿qué sucede cuando obtenemos cifras muy pequeñas como las que encontramos en los resultados de leucocitos residuales de unidades leucodepletadas? ¿Cifras que deben ser expresadas en células por microlitro (µL) para realizar los cálculos necesarios y estos sean reportados?

Si tuviéramos el siguiente número: 0.00000000000423, resulta difícil de manejar debido a que se podrían cometer errores, para evitar esto, la cifra se debe expresar como exponente, cifras menores a la unidad el exponente será denotado con un signo negativo, de tal forma que la cifra se expresaría así:

$$0.423 \times 10^{-11} \text{ o } 4.23 \times 10^{-12} \text{ o } 42.3 \times 10^{-13} \text{ o } 423 \times 10^{-14}$$

La cifra del exponente dependerá del lugar donde se coloque el punto, pero todas las cifras anteriores son correctas, la decisión de utilizar el exponente adecuado dependerá de la regla de los exponentes, de tal forma, que se emplea el mismo exponente para todos los datos que se trabajan, tanto para cantidades muy pequeñas como cantidades muy grandes.

Ejemplo: ¿cuántos CPu's contiene una aféresis cuya concentración de plaquetas obtenido es de 5×10^{11}? El requisito de calidad para la concentración de plaquetas en los CPu's es $>6.0 \times 10^{10}$ por unidad, si se homologan los exponentes se tiene que:

Si un CPu debe contener 0.6×10^{11} plaquetas por unidad y la unidad de aféresis plaquetaria obtenida contiene 5×10^{11} plaquetas, ambos datos tienen el mismo exponente, por lo que, se utilizan únicamente el 0.6 y 5, de tal forma que: 0.6 corresponden a 1 CPu y 5.0 ¿a cuántos CPu's corresponde? operación: 5÷0.6 =8.33 CPu's.

Sistema métrico decimal (SMD).

Los parámetros de calidad que se determinan en el control de calidad de componentes sanguíneos pertenecen al Sistema Métrico Decimal (SMD) y por definición se trata de un conjunto de medidas derivadas del metro y recibe el nombre de ***decimal*** debido a que sus medidas se incrementan o disminuyen en potencias de base 10. Las clases de medidas que se encuentran dentro del SMD son: ***longitud, superficie, volumen, capacidad y peso***.

La ***longitud*** determina la distancia entre dos puntos y su medida es el ***metro (m)***.

Los múltiplos de todas las medidas de longitud se forman anteponiendo a la palabra metro (m), de tal forma se tiene: metro cuadrado (m^2), metro cúbico (m^3) y decímetro cúbico. Las palabras griegas Deca, Hecto, Kilo y Miria, equivalen a diez, cien, mil y diez mil, respectivamente, los submúltiplos se forman anteponiendo las palabras griegas deci, centi y mili, que significan décima, centésima y milésima parte.

Mm.	km.	Hm.	Dm.	m.	dm.	cm.	mm.
10,000m	1000m	100m	10m	1	0.1m	0.01m	0.001m
$1x10^4m$	$1x10^3m$	$1x10^2m$	$1x10^1m$	$1x10^0$	$1x10^{-1}m$	$1x10^{-2}m$	$1x10^{-3}m$

La **superficie** no es una medida muy utilizada en el control de calidad de componentes sanguíneos, aunque es importante mencionarlo, por definición es la magnitud que expresa la extensión de un cuerpo en dos dimensiones, longitud y anchura y la medida es el ***metro cuadrado (m^2)***.

Mm^2.	km^2.	Hm^2.	Dm^2.	m^2.	dm^2.	cm^2.	mm^2.
100,000,000m^2	1,000,000m^2	10,000m^2	100m^2	1 m^2	0.01m^2	0.0001m^2	0.000001m^2
$1x10^8m^2$	$1x10^6m^2$	$1x10^4m^2$	$1x10^2m^2$	$1x10^0m^2$	$1x10^{-2}m^2$	$1x10^{-4}m^2$	$1x10^{-6}m^2$

Las medidas de ***volumen*** y ***capacidad*** son las medidas más utilizadas dentro del control de calidad de componentes sanguíneos.

El ***volumen*** es una magnitud escalar definida como el espacio ocupado por un cuerpo y la medida es el metro cúbico (m^3), el cual aumenta y disminuye en múltiplos de mil.

La medida que se utiliza para medir el volumen es la ***capacidad***, y corresponde al ***litro (L)***, las medidas aumentan y disminuyen de 10 en 10, equivale a un ***decímetro cúbico (dm^3)***.

ML.	KL.	HL.	DL.	L.	dL.	cL.	mL.
10000 L	1000 L	100 L	10 L	1 L	0.1 L	0.01 L	0.001 L
$1x10^4$ L	$1x10^3$ L	$1x10^2$ L	$1x10^1$ L	$1x10^0$ L	$1x10^{-1}$ L	$1x10^{-2}$L	$1x10^{-3}$L

Equivalencias más utilizadas

1 μL = 0.000001 L = 1×10^{-6} L

1 μL = 0.001 mL = 1×10^{-3} mL

1 μL = 1 mm^3

1 mL = 1000 μL = 1×10^3 μL

1 dL = 100 mL = 1×10^2 mL

El **peso** es la medida más utilizada dentro del control de calidad, se trata de la fuerza con la que la Tierra atrae a un cuerpo, por acción de la gravedad, la unidad de medida es el ***gramo (g)*** y las medidas del peso aumentan o disminuyen de 10 en 10 (1)

Mg.	Kg.	Hg.	Dg.	g.	dg.	cg.	mg.
10000 g	1000 g	100 g	10 g	1g	0.1 g	0.01 g	0.001 g
$1x10^4$ g	$1x10^3$ g	$1x10^2$ g	$1x10^1$ g	$1x10^0$g	$1x10^{-1}$ g	$1x10^{-2}$ g	$1x10^{-3}$ g

Regla de tres.

Por definición la regla de tres es una operación matemática que tiene por objeto hallar un cuarto término de una proporción, cuando se conocen tres elementos y puede ser simple o compuesta. Es simple cuando solamente intervienen en ella dos magnitudes o es compuesta cuando intervienen tres o más magnitudes.

La regla de tres consta de dos componentes: el supuesto y la pregunta. El supuesto está constituido por los datos de la parte del problema que ya se conoce y la **pregunta** por los datos de la parte del problema que contiene la incógnita.

Ejemplo:

Para resolver la regla de tres existen dos métodos:

A. Método de reducción a la unidad.

B. Método de las proporciones.

Método de reducción a la unidad.

En el método de reducción a la unidad existen tres posibilidades de la regla de tres, una que es directa e indirecta.

La **regla de tres simple directa** implica que la relación entre el supuesto y la pregunta es directa, esto significa que cuando aumenta una magnitud también lo hace la otra y se aplica esta regla de tres, nos ayuda a resolver rápidamente problemas de proporcionalidad. Para resolver lo haremos de la siguiente forma:

Si tenemos 3 magnitudes que conocemos las denominaremos a, b y c y la incógnita será *X*:

$[a \rightarrow b\ c \rightarrow X\ ] \Rightarrow X = \frac{b*c}{a}$

Ejemplo:

Si dos bolsas de sangre total pesan 850 g, ¿cuánto pesarían cuatro bolsas de sangre total?.

El supuesto está constituido por: 2 bolsas de sangre total y el peso 850 g. por lo que la pregunta consta de las 4 bolsas y X el peso desconocido.

Si 2 bolsas ST pesan 850, ¿cuánto pesarán 4 bolsas ST?

Supuesto: 2 bolsas ST.....850g

Pregunta: 4 bolsas ST..... X g

$X = \frac{4\ x\ 850}{2}$ = 1700 g. es la respuesta.

En la **regla de tres simple inversa** en ésta la proporcionalidad es inversa, esto significa que cuando una magnitud aumenta la otra disminuye, colocaremos las mismas tres magnitudes pero aplicaremos una fórmula distinta:

$[a \rightarrow b\,c \rightarrow X\,] \Rightarrow X = \frac{a*b}{c}$

Ejemplo:

4 técnicos de laboratorio procesan 48 ST en 12 horas. ¿En cuántas horas podrían procesar las mismas 48 ST pero ahora 7 técnicos de laboratorio?

Si 4 técnicos de laboratorio procesan 48 ST en 12 horas,

7 técnicos de laboratorio procesarían las mismas 48 ST en ..... *X* horas:

$$\frac{4\ x\ 12}{7} = 6.85\ horas\ \approx 7\ horas.$$

Método de las proporciones.

Este método de las proporciones nos sirve para resolver la **regla de tres compuesta**, en la cual existen más magnitudes, lo primero que se debe hacer es encontrar la relación en proporción que tienen las magnitudes y aplicar las técnicas de resolución directa e inversa.

Ejemplo:

Se requiere comprar contenedores para residuos biológico infecciosos en un banco de sangre, pero se necesitan comprar los adecuados para no pagar peso extra; se sabe que 5 contenedores con capacidad de 2 litros, cada uno pesa 10 kilos y se requieren de capacidad de 3 litros por lo que ¿cuánto pesarán 2 contenedores de 3 litros cada uno?

Supuesto: 5 contenedores.... 2 L ..... 10 K

Pregunta : 2 contenedores ....3 L ..... *X* K

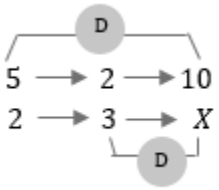
5 → 2 → 10

2 → 3 → *X*

Ahora se tiene que averiguar la relación entre las magnitudes, comparando siempre con la magnitud donde se encuentre la *X*.

Si comparamos contenedores con kilos: suponemos que menos contenedores entonces tendrán un menor peso. Por lo tanto, tienen proporcionalidad directa.

Ahora si comparamos litros con kilos: si hay más litros entonces pesarán más, por lo tanto, tienen una proporcionalidad directa



El método de las proporciones consiste en descomponer la regla de tres compuesta en reglas de tres simples y luego multiplicar ordenadamente las proporciones formadas.

Al formar cada regla de tres simple, consideramos que las demás magnitudes no varían.

Ahora, se escriben las relaciones en forma de fracción para poder despejar la incógnita *X*.

La primera fracción es donde se encuentra la incógnita (aunque no es obligatorio). Después, se iguala a la multiplicación de las dos fracciones:

$\frac{10}{X} = \frac{5}{2} * \frac{2}{3}$ y se resuelve:

$\frac{10}{X} = \frac{10}{6}$ se despeja la *X*

$X = (10 * 6) \div 10 = 6$

$$2\ contenedores\ de\ 3\ litros\ cada\ uno\ pesan\ 6\ kilos$$

Pongamos otro ejemplo:

En 4 días, 6 impresoras han impreso 100 informes de laboratorio. ¿Cuántos días tardarán en imprimir 50 informes si se cuenta con 4 impresoras?

4 días, 6 impresoras, 100 informes

X días, 4 impresoras, 50 informes

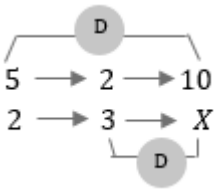
4 → 6 → 100

X → 4 → 50

Se analizan las proporciones de las magnitudes:

Si hay que imprimir menos informes entonces se necesitan menos días. Proporcionalidad directa.

Si hay menos impresoras entonces se necesitan más días. Proporcionalidad inversa.



Ahora, se escribe las relaciones en forma de fracción para despejar la *X,* teniendo cuidado de que la magnitud inversa se debe invertir, es decir, el denominador pasa a ser el numerador y el numerador pasa a ser el denominador.

$$\frac{4}{X} = \frac{4}{6} * \frac{100}{50}$$

Igual que el ejemplo anterior se resuelve por el método de los productos cruzados:

$$X = (4 * 6 * 50) \div (4 * 100)$$
$$X = 1200 \div 400 = 3$$

Para imprimir 50 informes con 4 impresoras tardarían 3 días.

- ## Diluciones.

Para realizar el control de calidad a los componentes sanguíneos en ocasiones se requiere diluir las muestras. Los analizadores automatizados de hematología tienen límites de detección máximos y mínimos en los cuales se garantiza y se asegura la validez de los resultados; estos analizadores han sido validados y son utilizados para muestras de población en general; las muestras de los componentes sanguíneos se encuentran concentradas y es por ello que deben ser diluidas con la finalidad de que la lectura se encuentre dentro de la zona de linealidad, en la cual los resultados son directamente proporcionales y válidos.

Una dilución en control de calidad es un procedimiento, cuya finalidad es disminuir la concentración de un **soluto *o muestra***, que pueden ser las células sanguíneas (plaquetas, eritrocitos o leucocitos) o plasma, con una solución **diluyente;** la cual podrá ser de diferentes orígenes, dependiendo del tipo de prueba a realizar y el tipo de soluto de que se trate.

Este procedimiento se logra mediante la adición de una cantidad específica de diluyente en una cantidad determinada de muestra y así generar una solución con una concentración menor de soluto o muestra y que se pueda introducir al analizador hematológico de tal forma que el resultado sea confiable.

Existen varios tipos de diluciones, en las que se conoce la concentración y volumen de una solución y si se requiere preparar una solución diluida se aplica la siguiente fórmula:

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2$$

Donde C_1 y V_1 corresponden a la concentración y volumen de la solución 1.

Y C_2 y V_2 corresponden a la concentración y volumen de la solución 2.

Ejemplo:

Se tienen 2 mL de una solución de glucosa al 10% y se requiere diluir para un estudio en el que se necesita una concentración de glucosa al 4%, ¿cuánto volumen se necesita para obtener esa concentración?

C_1 = 10%, V_1 = 2mL; C_2 = 4%, V_2 = X.

$C_1 * V_1 = C_2 * V_2$

Despejando V_2

$V_2 = \frac{C1 * V1}{C2} = \frac{10\% * 2mL}{4\%}$ = 5mL hay que adicionar para obtener una solución glucosada al 4%

Para llevar a cabo una dilución para realizar el control de calidad es importante conocer el **factor de dilución** (FD) que es el número de veces que debe diluirse una solución para obtener una menor concentración. Este factor permite determinar qué tan diluido se encuentra el último volumen con respecto al primero.

Para la realización del control de calidad a las muestras obtenidas de las aféresis plaquetarias y se requiere determinar la concentración de plaquetas en el analizador hematológico es importante realizar una dilución debido a que la muestra se encuentra muy concentrada, generalmente se utiliza la dilución: 1:5 aunque puede ser menor 1: 4, todo dependerá de la concentración de plaquetas obtenida o si se trata de una aféresis doble y también del volumen de la cosecha. Lo anterior, no necesariamente se requiere realizar, si el analizador hematológico posee la capacidad de analizar muestras en ese rango de concentración y esto fue verificado mediante la linealidad del equipo y documentado previo al inicio de su uso, las muestras pueden ser analizadas directamente sin la necesidad de hacer diluciones.

Otra de las muestras que generalmente se diluyen son las que se obtienen de los concentrados de eritrocitos cuando se realiza la determinación de hemoglobina y hematocrito, aunque esta dilución

puede ser únicamente 1:2 cuando se sobrepase el límite del valor del control de calidad alto del equipo.

¿Cómo se realiza?
Se toma 1 volumen de la muestra obtenida de la aféresis y se deposita en un tubo limpio de plástico al cual se le adicionan 4 volúmenes de SSI 0.9% de tal forma que el volumen final es 5, que resulta ser el factor de dilución, para el caso de los concentrados de eritrocitos, se realiza colocando un volumen de la muestra y un volumen de SSI 0.9% de tal forma que el volumen final es 2, y así se logra una dilución 1:2, con un factor de dilución de 2.

Si se requiere una dilución 1:10, será 1 volumen de muestra + 9 volúmenes de SSI 0.9% y obtendremos un volumen final de 10, o para obtener una dilución 1:20 colocaremos 1 volumen + 19 volúmenes del diluyente para obtener 20 volúmenes.

Diluciones seriadas.

Una dilución seriada es una secuencia de diluciones simples en la que se reduce la concentración progresivamente, paso a paso, va de una solución concentrada a una con una menor concentración. Por lo general, el factor de dilución en cada paso es constante, lo que da como resultado una progresión geométrica de la concentración. Estas diluciones son las más comunes de realizar en el laboratorio de banco de sangre.

Para realizar las diluciones seriadas 1:2 primero se coloca un volumen en una serie de tubos numerados 1 al n, dependiendo de cuánto se quiere diluir la muestra, enseguida se toma un volumen de la solución concentrada y se deposita en el primer tubo de la serie, se mezcla perfectamente y se toma un volumen del tubo 1 y se deposita en el tubo 2, se mezcla y se toma un volumen del tubo 2 y se deposita en el tubo 3 y así sucesivamente, hasta el último tubo que contendrá la muestra más diluida, se muestra en la Fig. 1.

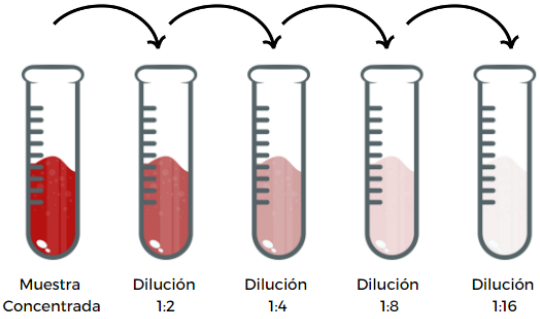


Fig 1. Diluciones seriadas 1:2

- **Muestreo estadístico para control de calidad de sangre y componentes sanguíneos.**

La importancia en la realización del control de calidad de los componentes sanguíneos radica en monitorear todo el proceso desde la obtención de sangre total, su procesamiento, la conservación y hasta su distribución, es por ello que se deben establecer estrategias efectivas de muestreo, así como la frecuencia en la que se debe realizar; todo con una visión de mejora y atención a las fallas, así como a establecer acciones correctivas y en su caso prevenir alguna irregularidad.

Dentro de las estrategias más efectivas de muestreo y realización del control de calidad es hacer el seguimiento a las unidades desde la ST, su procesamiento en la obtención de sus componentes, de tal forma que haya una evaluación integral de todo el proceso y a su vez sean evaluados los equipos como las balanzas mezcladoras, las centrífugas, los extractores de plasma y la cadena de frío.

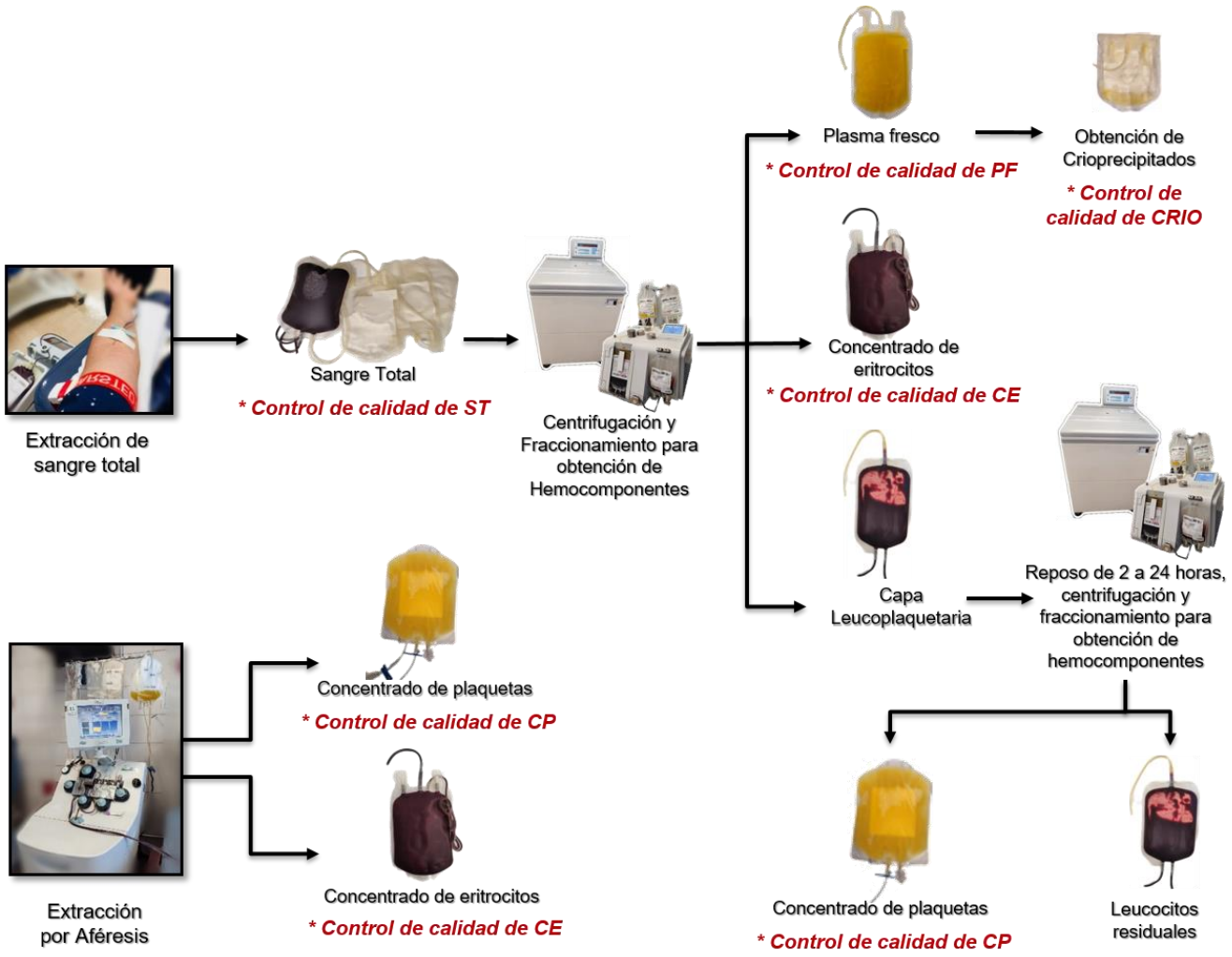
Idealmente se debe realizar el control de calidad semanalmente considerando la cantidad de muestras representativas, esta cantidad puede ser variable dependiendo de la producción del banco de sangre tomando un mínimo semanal de 5 a 10 unidades con la finalidad de que a fin de mes se tengan por lo menos de 20 a 40 unidades estudiadas que estadísticamente son representativas, el análisis se debe realizar mensualmente, concentrando y analizando todos los resultados obtenidos, se propone hacer el muestreo siguiendo el flujograma del esquema 1.

En caso de no poder realizarse el muestreo semanal se puede realizar cada dos semanas. Lo importante es evitar que se realice una sola vez al mes, debido al sesgo que se tiene al realizar el análisis haciendo difícil la verificación del proceso en general.

Para establecer la frecuencia del muestreo es importante realizar el control estadístico del proceso. Revisar capítulo 8 de esta guía.

Una medida importante del control de calidad es realizar la verificación de los equipos posterior a la realización de mantenimientos preventivos y correctivos con la finalidad de verificar su funcionamiento.

Esquema 1. Flujograma propuesto para realizar el muestreo



Nota: flujograma, creado y adaptado por la Dra. Lilia Rodríguez Sánchez., QC. Natalie Lucia Salazar Panes y QFB. Azucena Jiménez Domínguez, junio 2023.

En cada capítulo se hará la recomendación específica para la toma de muestras de cada componente sanguíneo. La selección de las muestras para el control de calidad debe ser aleatoria con la finalidad de evitar el sesgo y se haga una incorrecta interpretación de los resultados que sean obtenidos.

Para la toma de la muestra se deben tener algunas consideraciones generales entre las cuales se enlistan a continuación:

I. La muestra debe ser tomada de la línea de la tubuladura realizando la mezcla de la línea con el interior de la bolsa por lo menos 3 veces con ayuda de pinzas de rodillo, la muestra obtenida debe ser suficiente para realizar todos los estudios requeridos en la NOM 253, se debe sellar la línea correctamente para evitar fugas y, después de la toma de la muestra, verificar que la línea de tubuladura restante sea suficiente para poder realizar las pruebas de compatibilidad.
II. Si es necesario reintegrar al inventario la unidad, la muestra debe ser recolectada del segmento de las bolsas o transfiriendo la cantidad de muestra necesaria a bolsas satélites, mediante conexión estéril. La toma de la muestra deberá ser en condiciones asépticas sin abrir el sistema.
III. Si se realizan estudios a unidades que hayan llegado a término de su vigencia se podrá utilizar en su totalidad para las pruebas del control de calidad, mediante la recolección directa de la muestra en tubos de análisis y; se podrá abrir la unidad.
IV. Si las muestras no se procesan el mismo día de la toma, la temperatura de almacenamiento debe seguir las mismas recomendaciones de almacenamiento de los componentes sanguíneos.
V. Cuando las muestras sean recolectadas de los segmentos, éstas deben ser transferidas inmediatamente a los tubos de análisis. Para las muestras de Concentrados de Plaquetas debe ser realizada en tubos plásticos para evitar la activación plaquetaria.
VI. Los recuentos de plaquetas de los concentrados plaquetarios deben realizarse preferiblemente 24 horas después de la obtención y adecuada agitación de estos, con el fin de asegurar que las plaquetas no se encuentren agregadas en el momento del recuento.

- **Determinación de volumen.**

La densidad de un cuerpo (δ) por definición es la relación entre la masa (***P***) de una sustancia y el volumen que ocupa (***V***), para los sólidos es expresado en $\frac{g}{mL}$ (1)

$$\boldsymbol{\delta = \frac{P}{V}}$$

Para determinar el volumen de los componentes sanguíneos se debe despejar de la fórmula de densidad.

$$\boldsymbol{V = \frac{P}{\delta}}$$

Para aplicar la fórmula se debe conocer el peso del componente que se encuentra contenido en la bolsa para lo cual es necesario restar el peso de la bolsa vacía del peso bruto del componente.
Para obtener el peso de la bolsa vacía se puede obtener pesando aproximadamente 20 veces la bolsa mediante la realización de cortes en una bolsa de extracción considerando las bolsas satélites de cada componente. Para obtener el peso de la bolsa vacía de la sangre total se debe pesar con todas las bolsas satélites, retirar la aguja con la bolsa de derivación y después realizar los cortes siempre a la misma medida para evitar variaciones del peso, así como se muestra en las figuras 2 y 3, dependiendo de la configuración de la bolsa:

Fig 2. Bolsa Top and Bottom (bolsa arriba/abajo)

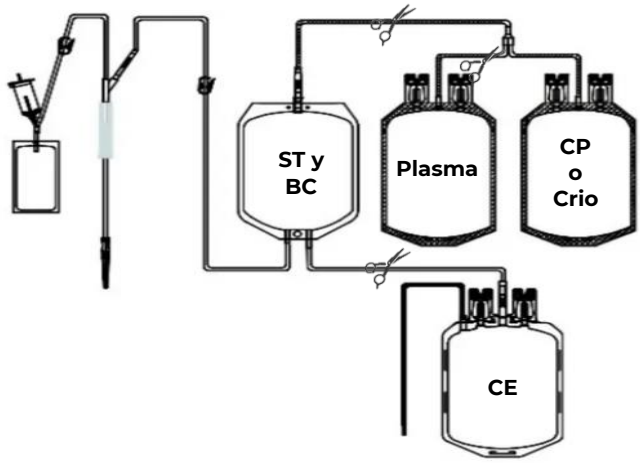
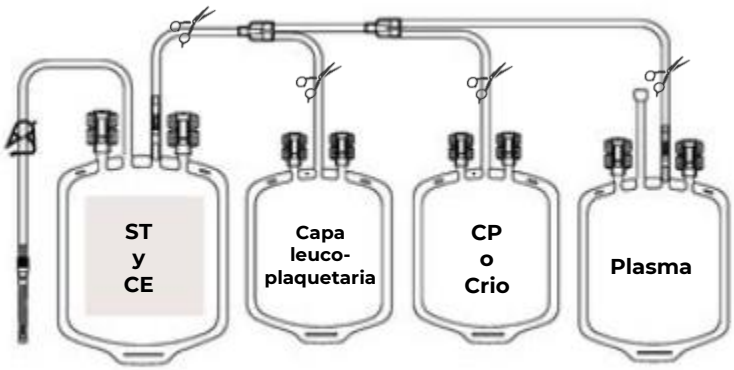


Fig. 3 Bolsa Top and Top (bolsa arriba/arriba)



Nota: *Imágenes tomadas de internet con licencias de derechos de autor Creative Commons.*

Si no se quiere sacrificar una bolsa de extracción, se puede solicitar al proveedor nos proporcione los pesos de las bolsas vacías considerando la longitud de la tubuladura para los cálculos.

Cuando se trate del peso de la bolsa vacía para obtener el concentrado de eritrocitos y ésta tenga solución aditiva, se debe restar el peso de la solución aditiva al peso de la bolsa obtenido, convirtiendo el volumen a peso y considerar que la densidad de la solución aditiva es 1.0, para homologar las unidades de medida a gramos (g); así como se muestra en el siguiente ejemplo:
Volumen de solución aditiva contenido en la bolsa = 100 mL.

$$\delta \text{ de la solución aditiva} = 1.0 \frac{g}{mL}.$$

$$P = \frac{V}{\delta} = \frac{100\ mL}{1\ g/mL} = 100\ g.$$

De tal forma que si la bolsa vacía con solución aditiva pesó 140 g debemos restar 100 g que corresponden al peso de la solución aditiva, debido a que, la solución aditiva forma parte del volumen del concentrado de eritrocitos.

Para el caso de las aféresis plaquetarias solicitar el peso de la bolsa vacía al proveedor del consumible, ya que, no es posible sacrificar un consumible.

Para obtener el peso bruto de la unidad o del componente sanguíneo se debe pesar la sangre total posterior al retiro de la aguja y la bolsa de derivación o los componentes sanguíneos posterior a su procesamiento procurando estandarizar la longitud de la línea que sea la misma que se consideró para el peso de la bolsa vacía y evitar variaciones de peso, el pesaje se debe realizar en una balanza granataria calibrada y verificada. Para el caso de las aféresis considerar si se obtiene una sola bolsa o un componente doble, luego decidir si se hace a cada bolsa o si se junta todo el volumen del componente en una sola bolsa, de acuerdo con su técnica validada.

Fig. Balanza granataria

Una vez que contemos con el peso bruto de la unidad de ST o de los componentes sanguíneos procedemos a realizar la siguiente operación.

$$Peso\ del\ componente = peso\ bruto\ del\ componente - peso\ de\ la\ bolsa\ vacía$$

La densidad de los componentes sanguíneos se encuentra referenciados en el Manual Técnico de la AABB (Association for the Advancement of blood & therapies) y se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Densidad de las principales células sanguíneas y componentes sanguíneos

Tipo de componente	δ *del componente* (g/mL)
Sangre total	1.053
Concentrado eritrocitario sin solución aditiva	1.08
Concentrado eritrocitario con solución aditiva	1.06
Plaquetas obtenidas por aféresis	1.03
Plasma	1.027
Crioprecipitado	1.024
Plaquetas	1.058

Nota: *Adaptada de la Tabla 6.6 del Manual Técnico AABB (2018) 18ª ed. AABB.*

Una vez que se tengan todos los resultados sustituir en la siguiente operación:

$$V = \frac{peso\ bruto\ del\ componente\ (g) - peso\ de\ la\ bolsa\ vacía(g)}{\delta\ del\ componente\ (\frac{g}{mL})}$$

Se debe reportar el volumen obtenido en mL.

- **Cálculos para hemoglobina y hematocrito en sangre y componentes sanguíneos.**

Hemoglobina.

Para realizar la determinación de hemoglobina en la sangre total y los concentrados de eritrocitos, la muestra se procesa en un analizador automatizado de biometría hemática y la mayoría de ellos tienen como fundamento la reacción química de la sangre con un reactivo que contiene cianuro y ferrocianuro de potasio (reactivo de Drabkin), que oxida la hemoglobina a metahemoglobina la cual a su vez pasa a cianometahemoglobina y se realiza la lectura por espectrofotometría.

El equipo que se utilice deberá encontrarse bajo un estricto control estadístico de calidad, corriendo los controles de calidad, bajo, normal y alto; contar con los mantenimientos preventivos y la programación de los mismos, así como los procedimientos de limpieza que determine el proveedor y todo deberá contar con la evidencia de su realización.

La toma de la muestra se realizará antes de segmentar la tubuladura para las pruebas de compatibilidad, la homogeneización de la tubuladura con el contenido de la bolsa se realizará ayudados de una pinza de rodillo o empleando una pinza que permita corra adecuadamente la sangre sin ocasionar hemólisis al momento de homogeneizar. Se debe mezclar por lo menos 3 veces hasta *n* cantidad de veces toda vez que se haya estandarizado y la muestra debe ser representativa del contenido de la bolsa del componente.

Una vez que se haya realizado la homogeneización de la bolsa con la tubuladura o línea del componente, sellar perfectamente a una longitud aproximada de 1 a 2 cm en la parte distal de la bolsa cortar y se debe sellar, esa será la muestra que se utilizará para procesarla en el analizador automatizado. La muestra será vertida en un tubo de vidrio o de plástico con que se cuente, de una medida de 12 x 75 mm.

Es necesario evaluar si se debe realizar una dilución de la muestra en el caso de que sea necesario. Se recomienda hacer una dilución 1:2 inicial, siempre que se determine que el límite de detección superior es alcanzado en la primera lectura; esta dilución se debe considerar cuando se hagan los cálculos en la fórmula.

Procesar la muestra en el analizador automatizado de biometría hemática, se obtiene la lectura del equipo que es reportada en gramos por decilitro (g/dL), los cuales se deben convertir a mililitros con la siguiente equivalencia:

Los 100 mL equivalen a 1 decilitro, por lo tanto, se debe dividir $\frac{1\ dL}{100\ mL}$.

Para obtener la hemoglobina que contiene el concentrado de eritrocitos se debe considerar el volumen del componente, el cual, se obtuvo en el inciso anterior y aplicar la fórmula:

$$Hb\ por\ unidad = \ lectura\ del\ equipo\ \left(\frac{g}{dL}\right) \times \frac{1\ dL}{100mL} \times volumen\ de\ componente.$$

Si se realizó dilución multiplicar por el factor de dilución y reportar resultado.

Ejemplo:
Lectura del equipo = 21 g/dL.
Volumen del Concentrado de eritrocitos= 264 mL

$$Hb\ por\ unidad = 21\ \left(\frac{g}{dL}\right) \times \frac{1\ dL}{100mL} \times 264\ mL$$

Hb por unidad = 55.4 g/unidad

Una vez que se ha obtenido el resultado se compara con lo que establece la NOM 253 para saber si se cumple los parámetros de calidad establecidos.

Hematocrito.

Para la determinación del hematocrito se utiliza la misma muestra obtenida para determinar la hemoglobina. El resultado que se obtiene al procesar la muestra en el analizador automatizado de biometría hemática se reporta tal cual, debido a que lo emite en porcentaje (%), en el caso de que se haya realizado dilución se debe multiplicar por el factor de dilución y se reporta.

Ejemplo:
Lectura del equipo = 57%
Una vez que se ha obtenido el resultado se compara con lo que establece la NOM 253 para saber si se cumple los parámetros de calidad establecidos.

- **Cuantificación de células de la sangre en componentes sanguíneos.**

La determinación de la concentración de células por unidad en los componentes sanguíneos leucorreducidos se puede realizar con el método automatizado en un analizador de biometría hemática, o por el método manual con una cámara de Neubauer.

Método automatizado.

Estos equipos funcionan en su mayoría con el principio de impedancia eléctrica[1], utiliza la propiedad de las células (leucocitos, eritrocitos y plaquetas) de no conducir la electricidad. Uno de los reactivos usados es una solución isotónica, sin partículas y conductora de electricidad. La sangre diluida en esta solución produce un aumento en la resistencia eléctrica; ante el paso de un elemento, que corta la corriente eléctrica, se genera un pulso eléctrico medido por el software del equipo. De tal forma que se obtiene:

- Recuento de glóbulos rojos
- Recuento de plaquetas
- Recuento de glóbulos blancos.

Para determinar cantidad de plaquetas en concentrados de plaquetas obtenidos a partir de la capa leucoplaquetaria y los que se obtienen por aféresis es importante considerar que en caso de que la cantidad de plaquetas contenidas en la muestra exceda el rango de linealidad del equipo, se procede a una dilución; considerando las lecturas mínimas y máximas de los controles de calidad; se recomienda realizar diluciones con SSI 0.9%, de 1:2 para concentrados plaquetarios unitarios y 1:5 para las aféresis plaquetarias.

Para la cuantificación de leucocitos residuales en componentes leucorreducidos es importante conocer la sensibilidad analítica del analizador, dicho de otro modo, la cantidad mínima que se puede leer en el equipo, en la mayoría de los equipos es de 200 leucocitos/μL.

Para conocer el número de células que contiene la unidad se debe determinar primero el volumen de la unidad tal como se detalló anteriormente.

La muestra se toma realizando la homogeneización entre la tubuladura y el contenido de la bolsa utilizando una pinza de rodillo o una pinza que permite realizar la mezcla y homogenizar sin maltratar el componente, mezclando mínimo 3 veces o *n* cantidad de acuerdo a lo estandarizado. Realizar la dilución si es necesario o procesar la muestra directamente en el analizador.

[1] Todo analizador automatizado debe estar conectado a un regulador de voltaje, en especial los analizadores de hematología que utilizan la impedancia eléctrica, con finalidad de evitar alguna alteración en el conteo de células, especialmente plaquetas.

Una vez que se obtenga el resultado del analizador aplicar la siguiente fórmula teniendo las siguientes consideraciones:

La lectura del equipo se reporta como: ***$10^3/\mu L$ o x 10 $^3 mm^3$,*** dependiendo del reporte de unidades en los resultados del equipo analizador, siendo el *μL* la unidad de volumen en que se mide.

Se deben convertir los *μL* a mL, por lo que, 1 mL tiene 1000 *μL*, de tal forma que se debe multiplicar 1000 *μL*/1mL.

Sustituir los resultados obtenidos en la fórmula:
Número de células/unidad = lectura del equipo *($10^3/\mu L$ o x 10 $^3 mm^3$ o K/μL)* X 1000 μL/1mL X volumen de la unidad (mL).

Ejemplo: Consideremos una aféresis plaquetaria unitaria con un volumen de 240 mL, se realizó una dilución 1:5.

#plaquetas/unidad= 340 x $10^3/\mu$L X 1000μL/1mL X 240 mL

#plaquetas/unidad= 8.16 x 10^{10}

Y multiplicar por 5 que corresponde al factor de dilución, obtenemos un resultado de

4.08 x 10^{11} plaquetas/unidad

Ejemplo:
Leucocitos en un concentrado eritrocitario sin capa leucoplaquetaria en solución aditiva

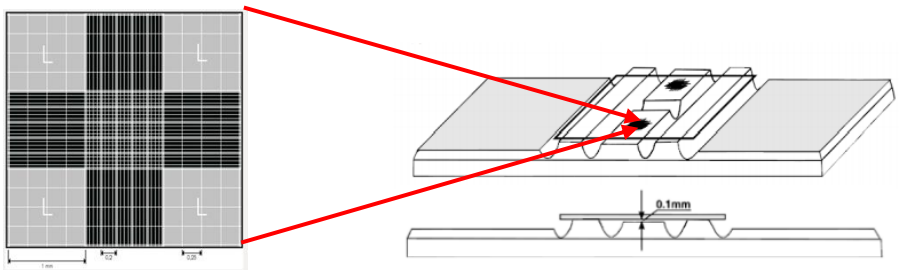
Lectura del equipo= .7 x $10^3/\mu L$
Factor de conversión = 1000 µL/1 mL
Volumen del CE=226 mL
Leucocitos/unidad= 700/ μL x 1000 µL/1 mL *x 226 mL*

Leucocitos/unidad= 1.6 x 10^8

Método manual

La cámara de neubauer es un hemocitómetro que consta de una lámina portaobjeto grueso, en el centro se hallan dos superficies cuadriculadas iguales separadas del resto de la lámina por surcos y dos barras transversales elevadas y una laminilla cubreobjetos ópticamente plana, que al colocarse forma una cámara entre el cubreobjetos y la superficie cuadriculada. La altura entre el cubreobjetos y la lámina es de 0.1 mm, cada cuadrícula mide 3mm de lado y se divide en 9 cuadrados grandes. Cada uno de los cuales mide 1 mm^2, que se subdivide a su vez en 16 cuadrados medianos. El cuadrado grande central se divide en 25 cuadrados pequeños y cada uno de ellos en 16 cuadros pequeños, cada cuadrado pequeño mide 0,2 mm de lado (0,04 mm^2 de superficie), y cada cuadrado pequeño mide 0,05 mm de lado (0,0025 mm^2 de superficie)

Fig. 4 Cámara de Neubauer

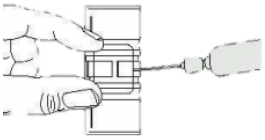


Nota: Imagen tomada de Muñoz *Zambrano M, Morón Cortijo C. (2005) Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología*

Recuento de leucocitos en componentes leucorreducidos:

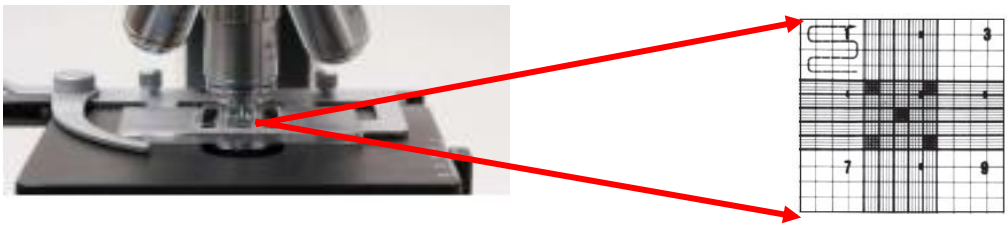
Para realizar la cuenta de leucocitos en la cámara de Neubauer se debe realizar una dilución 1:20 con líquido de Turk, posteriormente cargar la cámara como se muestra en Fig. 5

Fig. 5 Carga de cámara de Neubauer.



La cámara se coloca en una caja de Petri con unas gasas húmedas aprox. 10 minutos y se procede a leer los 4 cuadrantes grandes (1, 3, 7 y 9) en un microscopio óptico en objetivo 10x:

Fig. 6 Vista de cuadrícula al microscopio



Posterior a la lectura de los cuatro cuadrantes se aplica la fórmula:

$$\#leucocitos\ mm^3 = \frac{leucocitos\ contados\ en\ los\ 4\ cuadrantes}{altura\ \times\ dilución\ \times área}$$

La altura corresponde a 1:10

La dilución es 1:20

El área es 4

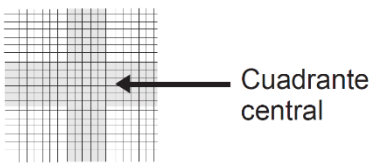
Sustituyendo en la fórmula se tiene como resultado:

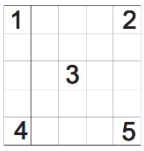
$$\#\ leucocitos\ mm^3 = leucocitos\ contados\ \times\ 50$$

Cuenta de plaquetas:

Se realiza una dilución 1:200 de la muestra del concentrado plaquetario con Oxalato de Amonio al 1%. Se carga la cámara con esta dilución y se coloca en una caja de Petri con una gasa humedecida durante aproximadamente 15 minutos y se lee al microscopio utilizando el objetivo 40x y realizar el conteo en el cuadrante central, cinco puntos como se indica en la figura 7.

Fig. 7. Técnica de determinación de células utilizando cámara de Neubauer





10x 40x

Los cálculos se realizarán de la siguiente manera:

$$\#plaquetas\ mm^3 = \frac{plaquetas\ contados\ en\ los\ 5\ cuadrantes}{altura\ \times\ dilución\ \times área}$$

La altura corresponde a 1:10
La dilución es 1:200
El área es 1:5

Sustituyendo en la fórmula se tiene como resultado:

$$\#\ plaquetas\ mm^3 = plaquetas\ contadas\ \times\ 10\ 000$$

Toda vez que se tengan los resultados de leucocitos y plaquetas x mm^3 se debe utilizar la fórmula considerando que 1 mm^3 equivale a 1μL, por lo que:

Número de células/unidad = #células/μL X 1000 μL/mL X volumen de la unidad (mL).

- **Determinación de pH.**

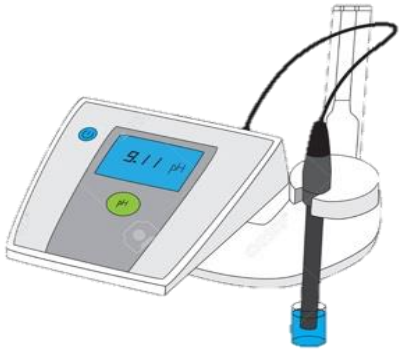
La medición del pH en los concentrados plaquetarios es un indicador de las lesiones por almacenamiento que pueden sufrir las plaquetas y es una medida que indica la acidez o alcalinidad del agua, se define como la concentración de protones o iones de hidrógeno en el agua, la escala del pH es logarítmica con valores de 0 a 14, siendo el 7 definido como neutro, valores menores de 7 se consideran ácidos y valores arriba de 7 son alcalinos.

Entre los factores que afectan la viabilidad se encuentran la permeabilidad de la bolsa ineficiente, cantidad de leucocitos residuales no retirados principalmente los polimorfonucleares, falta de agitación o ineficiente durante su almacenamiento, que se coloque la bolsa en el agitador de manera que no permita el intercambio gaseoso y la contaminación por bacterias. El pH debe conservarse entre 6.4 a 7.4 durante todo su almacenamiento (5 días) en agitación constante y a temperatura controlada de 22 a 24 ℃.

La determinación de pH se realiza mediante la medición de la diferencia de potencial entre un par de electrodos adecuados sumergidos en una misma solución. No deberán emplearse tiras comerciales de determinación de pH para el control de calidad de componentes sanguíneos.

El dispositivo que se utiliza para la determinación de pH es el potenciómetro (Fig. 8), que determina la actividad de los iones en las soluciones de base acuosa y mide la diferencia de potencial eléctrico entre un electrodo de referencia y un electrodo de pH, esa diferencia es lo que conocemos como pH. Los potenciómetros disponibles pueden estar equipados o no con un sistema de compensación de la temperatura debido a que es un factor que afecta esta determinación y tienen una precisión de 0.01.

Fig. 8. Potenciómetro

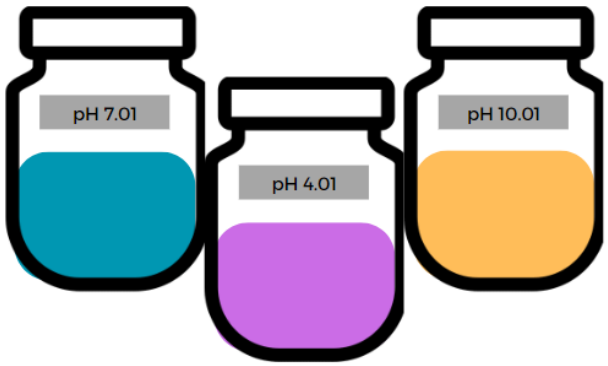


Calibración.

La calibración del dispositivo se refiere al procedimiento en el que se establece una relación entre las lecturas de un instrumento y los valores de una magnitud física estandarizada y debe llevarse a cabo para asegurar la precisión y repetitividad en las lecturas y mediciones realizadas con los medidores. Para que la calibración sea eficaz es fundamental que el electrodo se encuentre en buen estado, limpio, hidratado y sin daños físicos. El electrodo debe sumergirse en la solución de almacenamiento por un tiempo aproximado de 30 minutos antes de ser utilizado.

Las soluciones de calibración (solución reguladora acuosa) se preparan empleando patrones primarios o reactivos analíticos de calidad apropiada. Los más utilizados son tetraoxalato de potasio 0,05M (pH 1.68); bilftalato de potasio 0,05M (pH 4.01); fosfato equimolar (pH 6.86); tetraborato de sodio 0,01M (pH 9.18) y se debe contar con el certificado de calibración, así como ser conservados adecuadamente para asegurar la calibración del dispositivo.

Fig. 9 Soluciones de calibración



Para la calibración se realiza cerca del punto isopotencial (la señal producida por un electrodo a pH 7 es 0 mV a 25℃) y una segunda a pH 4 y/o 9.1. Se recomienda utilizar soluciones con pH cercano a 6.4 que es el punto de decisión de aceptación para los concentrados de plaquetas.

La calibración se puede realizar de dos maneras:

1. Dos puntos: el microprocesador calcula la inclinación real y el error de desplazamiento del electrodo de pH. Con base en esta información, la ecuación mV/pH del medidor se ajusta para que coincida con las características del electrodo de pH utilizado. Los dos puntos de calibración cubren el rango y los valores a medir. El primero será neutro, con un pH igual a 7, y el segundo deberá estar cerca del pH cercano de la muestra, en este caso sería el de 4.0. Las lecturas que excedan el rango calibrado pueden mostrarse con pequeñas desviaciones del valor real, debido a que son extrapoladas por el potenciómetro, asumiendo la linealidad.
2. Multipunto: consiste en una calibración con más de dos valores de pH a cada lado del punto cero, que en este caso es pH 7,00. La calibración a tres o más valores de pH aumenta el rango de medición del dispositivo.

Procedimiento:

Puede variar de acuerdo al modelo y fabricante del potenciómetro. Siempre se deben seguir las indicaciones del fabricante (revisar el manual del usuario):

1. Encender el potenciómetro antes de empezar a calibrar. Usar el dispositivo se deberá atemperar aproximadamente 30 minutos.

2. Limpiar el electrodo. Retirar el electrodo de la solución de almacenamiento y enjuagarlo con agua destilada en un vaso de precipitado limpio y secarlo con un paño limpio que no suelte pelusa, procurando no frotar el electrodo para evitar rayarlo.
3. Realizar la calibración del equipo (CC equipo).
4. Colocar las soluciones calibradoras a utilizar en vasos de precipitados limpios, se recomienda utilizar el pH 7.0 y pH 4.0. Las soluciones no deben permanecer más de dos horas en los vasos de pp y nunca deben regresar a los envases originales.
5. Colocar el electrodo en la solución calibradora de pH 7. Se empieza a medir, una vez que esté sumergido en el líquido, se presiona el botón de medición o de calibración dependiendo del dispositivo, se debe permitir que se estabilice la lectura y posteriormente dejar que repose de 1 a 2 minutos. Una vez que la lectura se estabilice, volver a presionar el botón de medición para marcar el dispositivo de acuerdo al pH de la solución de esta manera se obtendrá una lectura más precisa.
6. Enjuagar con agua destilada el electrodo y limpiar con un paño que no deje pelusas, antes de sumergirlo en otra solución.
7. Colocar la solución de pH y repetir los pasos 5 y 6.
8. Recolectar una muestra representativa de la bolsa, colocarla en un tubo de plástico y de preferencia centrifugarla para evitar interferencia con las células
9. Colocar el electrodo en la muestra previamente recolectada, una vez que el electrodo esté dentro de la muestra, presionar el botón de medición y permitir que el dispositivo repose de 1 a 2 minutos.
10. Hacer la medición en el equipo y reportar
11. Enjuagar el electrodo en agua destilada y secar con un paño que no suelte pelusa.
12. Dejar el electrodo en la solución de almacenamiento.

Al culminar el análisis, se debe tener cuidado siempre de mantener el electrodo limpio y húmedo en cada determinación, sin dañarlo.

- Determinación de hemólisis.

A. Procedimiento para la determinación de hemólisis (Hb_L):

El porcentaje de hemólisis de la masa eritrocitaria es un indicador de la calidad e integridad de los eritrocitos que permite valorar la conservación del hemocomponentes a lo largo del tiempo. Está determinado por las lesiones por mala conservación e inadecuado almacenamiento, por lo que es importante considerar todas las variables que pueden afectar y provocar incremento de lesiones.

Se realiza con un equipo que consiste en un fotómetro y una microcubeta diseñados especialmente para la determinación cuantitativa de bajas concentraciones de hemoglobina en muestras de suero, plasma y soluciones acuosas (solución aditiva).

Tiene como fundamento la reacción de metahemoglobina azídica modificada, a una doble longitud de onda (570 nm y 880 nm) para compensar la turbidez.

No requiere calibración adicional.

Fig. 10 Plasma Low ®

Para conocer el porcentaje de hemólisis de la masa eritrocítica se debe aplicar la siguiente fórmula:

$$\%\ de\ hemólisis = \frac{hemoglobina\ del\ sobrenadante\ (g/L)}{hemoglobina\ total\ (g/L)} \times (100 - hematocrito\ \%)$$

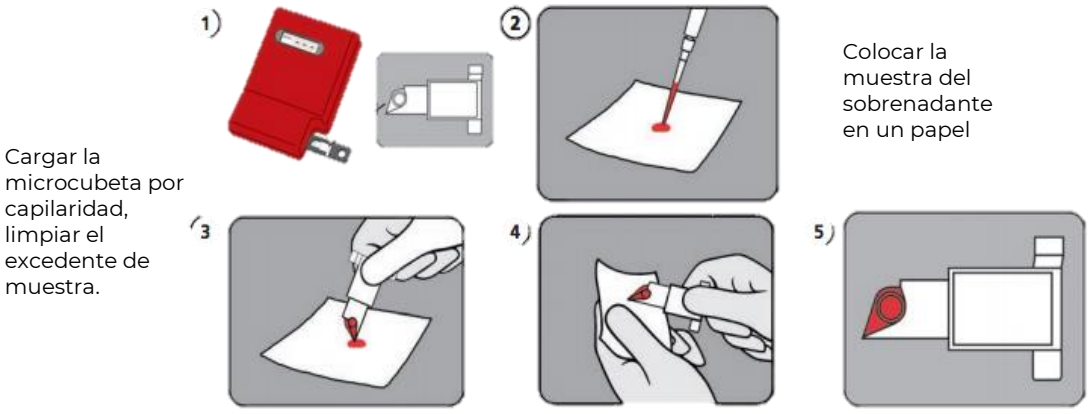
Para ello primero se requiere determinar la hemoglobina y el hematocrito total de la muestra recolectada. La muestra debe ser representativa del contenido de la bolsa por lo que debe ser recolectada realizando homogeneizaciones de la tubuladura y la bolsa ayudándonos de unas pinzas de rodillo o pinzas que no ocasionen hemólisis. Se debe realizar por lo menos 3 homogenizaciones antes de recolectar la muestra.

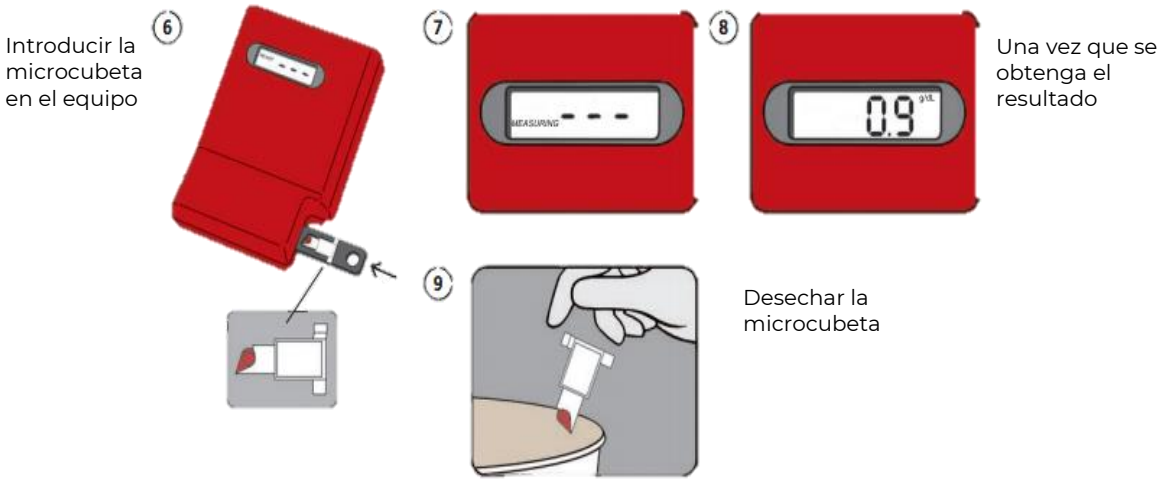
Colocar la muestra en tubos de vidrio de la medida 12 x 75 mm.

Se debe homogenizar la muestra y procesar en un analizador automatizado para obtener la hemoglobina y hematocrito totales. Una vez que se obtenga la lectura de la hemoglobina total del equipo se deben transformar los g/dL en g/L.

Deberá centrifugar la muestra a 250 g y hacer el análisis de hemoglobina al sobrenadante mediante la técnica mostrada en el esquema 2 de acuerdo al manual del usuario.

Esquema 2. Técnica para determinación de Hemoglobina libre en plasma





Nota: imágenes tomadas del Manual de funcionamiento Plasma Low Hb. ® pdf.

Con el resultado obtenido del equipo (mg/dL) hacer los cálculos correspondientes para convertir las unidades de medida en g/L.

Sustituir los resultados en la fórmula y reportar % de hemólisis.

$$\%\ de\ hemólisis = \frac{hemoglobina\ del\ sobrenadante\ (g/L)}{hemoglobina\ total\ (g/L)} \times (100 - hematocrito\ \%)$$

B. Procedimiento alternativo para la determinación de hemólisis (HbL):

La determinación cuantitativa de los niveles de hemoglobina libre (Hb_L) en muestras de plasma o suero y el grado de hemólisis son indicadores de la calidad e integridad de los hemocomponentes.

- Mezclar tres veces el contenido del túbulo con el contenido de la unidad, obtener una alícuota (sellar sin perder la esterilidad) y colocarla en un tubo de plástico o vidrio de 12x75.
- Determinar Hb_L y Hto.
- Centrifugar durante 10 min a 3500 rpm y separar 500 µL de sobrenadante.
- Determinar el porcentaje de hemólisis mediante alguno de los 4 métodos disponibles:

- Evaluación visual,[2]
- Método espectrofotométrico[3],
- Método fotométrico[4]y
- Técnica en microplaca[5].

- Calcular el porcentaje de hemólisis en los CE de la siguiente manera (método espectrofotométrico o fotométrico[6]):

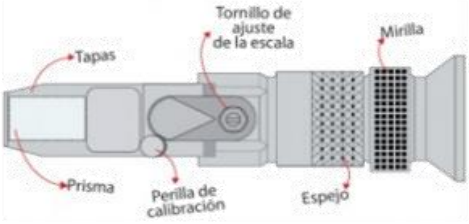
$$\% \text{ de Hemolisis} = \frac{(100 - Hct) \times Hb_L \text{ (g/dl)}}{Hb_T \text{ (g/dl)}}$$

- **Determinación de proteínas totales.**

La determinación de proteínas totales en los plasmas frescos es un requisito de calidad exigido por la Normatividad nacional por lo que la forma de realizar de forma común y económica es utilizando la técnica de refractometría.

La **refractometría** es un método de análisis óptico de sustancias que mide el índice de refracción de una sustancia para determinar sus principales características. Se fundamenta en el paso de un haz de luz de un medio a otro, la cual experimenta un cambio de dirección que depende de la naturaleza de estos medios.

Fig. 11 Refractómetro



[2] Zimmermann R, Heidenreich D, Weisbach V, Zingsem J, Neidhardt B, Eckstein R. In vitro quality control of red blood cell concentrates outdated in clinical practice. Transfusion Clinique et Biologique 2003;10:275-83.
[3] Cookson P, Sutherland J, Cardigan RA. Simple spectrophotometric method for the quantification of residual haemoglobin in platelet concentrates. Vox Sanguinis 2004;87:264-71.

[4]Janatpour KA, Paglieroni TG, Crocker VL, Dubois DJ, Holland PV. Visual assessment of hemolysis in red cell units and segments can be deceptive. Transfusion 2004;44:984-9.

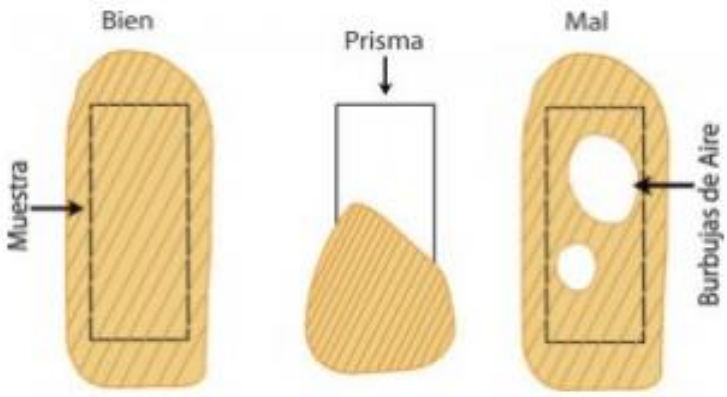
[5] Seghatchian J, Krailadsiri P, Beard M, Vickers M. Development of a Microplate method for the measurement of plasma haemoglobin and its use in monitoring the storage lesion of red cell components.Transfus Apher Sci 2002;26:91-3.
6 Sawant RB, Jathar SK, Rajadhyaksha SB, Kadam PT. Red cell hemolysis during processing and storage. Asian J Transfus Sci. 2007 Jul;1(2):47-51.

Procedimiento[7]:

Limpiar el prisma con agua destilada y un paño suave que no deje pelusas y no raye.

Colocar 2 gotas de agua destilada sobre el prisma, cerrar cuidadosamente la tapa evitando formar burbujas y procurar que el líquido se extienda homogéneamente por todo el prisma.

Fig. 11. Vista del prisma



Observar por el lente la escala y ajustar a cero usando el tornillo de ajuste de la escala.

Abrir la tapa y secar el agua destilada utilizando un paño suave que no deje pelusas (hacerlo cuidadosamente y evitar tallar para no rayar el prisma).

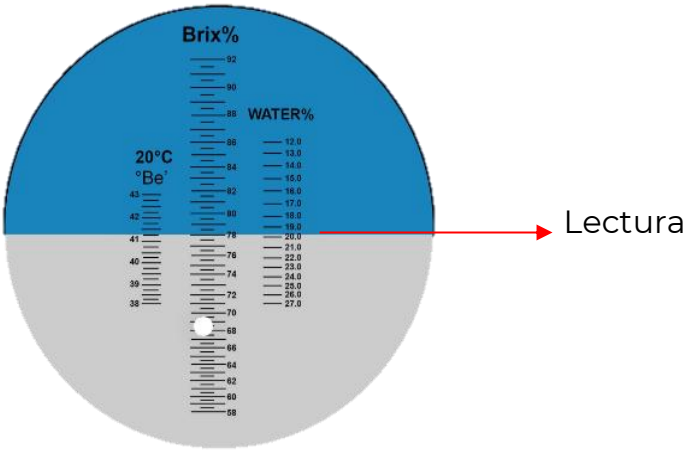
Obtener una muestra del plasma fresco antes de congelar, la muestra debe ser representativa del contenido de la bolsa y evitando abrir el sistema para que el componente pueda regresar al inventario. La muestra debe ser colocada en un tubo de plástico y posterior a la determinación de proteínas totales proceder a conservarla a temperatura de refrigeración (2 a 6°C) ya que será utilizada para determinación de $FVIII_c$

Colocar 1 o 2 gotas del plasma sobre el prisma cerrar cuidadosamente la tapa evitando la formación de burbujas y procurando que el líquido se extienda homogéneamente por todo el prisma.

Mirar la escala a través del lente y reportar el resultado. La lectura de la escala es en la línea de frontera.

7 Refractometría. (2022). Equipos y laboratorio de Colombia. https//www.equiposylaboratorio.com

Fig. 12. Vista de la escala del refractómetro



En caso de no contar con un refractómetro, se puede utilizar la determinación de proteínas totales mediante el método de Biuret de cualquier casa comercial midiendo en un fotómetro.

El resultado se reporta en gramos por litro (g/L) y se compara con el requisito de calidad exigido en la NOM 253 para determinar si cumple o no con la especificación. El requisito de calidad de la determinación de proteínas totales en plasma fresco debe ser >50 g/L.

10. Capítulo 2.

- ### Sangre Total.

Los candidatos a donar deben seleccionarse de acuerdo a *"La guía nacional de criterios para la selección de donantes de sangre y sus componentes sanguíneos para el uso terapéutico"* , en donde se encuentran referenciados los niveles de hemoglobina y hematocrito de acuerdo al género y altitud de residencia sobre el nivel del mar a considerar debido a que el volumen que será extraído para una unidad de Sangre Total (ST) será de 450 mL ±10%, en condiciones óptimas.

El control de calidad de la Sangre Total (ST) comienza desde la obtención y durante toda la extracción deberá mantenerse en agitación constante, con la utilización de balanzas mezcladoras las cuales deben estar bajo control. Se deberá contar con su programa de mantenimientos preventivos y los registros que demuestren que se han realizado, así como el control diario de peso y/o volumen antes de su uso para garantizar la recolección del volumen requerido.

Una vez obtenida la ST se deberá:

- Inspeccionar visualmente todas las unidades. En caso de que la unidad tenga evidencia de ruptura, daño o defecto en la bolsa, aire excesivo o cualquier otra alteración como presencia de coágulos, debe darse destino final.
- Determinar la frecuencia de muestreo de acuerdo a la producción mensual y programar. Es conveniente realizar semanalmente el control de calidad.
- Seleccionar aleatoriamente unidades para realizar el control de calidad, es recomendable utilizar aproximadamente 5 a 10 unidades cada semana de acuerdo a la obtención mensual, esto es, para tener una muestra representativa y valorar adecuadamente el inicio del proceso de procesamiento.
- Retirar la aguja, dejar aproximadamente de 5 a 7 cm de longitud de la tubuladura para realizar el muestreo.
- Homogeneizar el contenido de la tubuladura, ayudándose de unas pinzas de rodillo mínimo 3 veces, mezclando el contenido de la bolsa perfectamente con el de la tubuladura; tomando el extremo distal y retrayendo el contenido de la tubuladura hacia la bolsa, de tal forma que se obtenga una muestra representativa del contenido de la bolsa.
- Sellar la tubuladura aproximadamente a 1 cm de la bolsa y la tubuladura restante colocar el contenido en un tubo de plástico para realizar la determinación de Hemoglobina total de la unidad.
- Con la muestra obtenida determinar la Hemoglobina total de la unidad de acuerdo a técnica descrita en capítulo 1 página 27. Los resultados de la Hb Total de la unidad de ST deberá ser ≥ 45 g por unidad.
    - Si se cuenta con una unidad que haya llegado a su término de vigencia determinar el porcentaje de hemólisis de la masa eritrocítica la cual no deberá ser mayor del 0.8% de acuerdo a la técnica descrita en el capítulo 1 página 41 de esta guía.
- Pesar las unidades de ST en una balanza granataria.
- Obtener el volumen de la unidad de ST de acuerdo de acuerdo a la técnica descrita en el capítulo 1 página 27 de esta guía, considerando que el peso de la bolsa vacía debe ser la unidad completa incluyendo las bolsas satélite y el anticoagulante, sin la aguja. Para los cálculos la densidad de la ST es de 1.053 g/mL.

- El control microbiológico se realizará de acuerdo a la técnica descrita en el capítulo 7 de esta guía.

Como parte del control de calidad es importante calcular los pesos máximos y mínimos de la ST posterior a su obtención tomando en cuenta los volúmenes del límite superior e inferior permitido como requisito de calidad descrito en la normativa.

- Peso de unidad ST para obtener un volumen de 405 mL = 405 mL * densidad de ST (1.053 g/mL) = 428.49 g + peso de la bolsa vacía incluyendo el anticoagulante previo retiro de la aguja.
- Peso de unidad ST para obtener un volumen de 495 mL = 495 mL * densidad de ST (1.053 g/mL) = 523.7 g + peso de la bolsa vacía incluyendo el anticoagulante previo retiro de la aguja.

Estos datos deben ser colocados en el área de flebotomía y todo el personal debe cumplir con los pesos mínimos y máximos, éstos datos deben actualizarse si existe un cambio de bolsa de recolección.

Casos especiales:

Durante la extracción de ST pueden existir complicaciones, con el donador o con las balanzas mezcladoras o con la punción, y obtenerse un volumen menor a los 405 mL, se deberá proceder de la siguiente manera:

- Si el volumen de sangre obtenido es entre 300 y 404 mL, solo se preparará el concentrado de eritrocitos anotando “unidad de bajo volumen", y se dará destino final al plasma.
- Si el volumen es menor de 300 mL se dará destino final a la unidad.

Las unidades de ST de bajo volumen que se encuentren en el rango de 300 a 404 mL, aunque se pueden utilizar, éstas no se deben incluir en la estadística mensual salvo que se encuentren en un porcentaje elevado de las unidades que se estudien, sin embargo, se deberán analizar las causas e implementar acciones con la finalidad de que no ocurra con mayor frecuencia.
En el momento del procesamiento de esta unidad de bajo volumen es importante considerar que el concentrado de eritrocitos que se obtendrá podría requerir acciones complementarias con el fin de rescatarlo y se pueda incluir en el inventario, estas acciones se describirán en el capítulo 3.

11. Capítulo 3.

- ## Concentrado eritrocitario de sangre total[8].

Los parámetros de calidad de los concentrados eritrocitario obtenidos a partir de ST, dependen del tipo de bolsa con el que se esté trabajando, de la configuración de la bolsa si es Top and Top o Top and Bottom, si contiene o no solución aditiva , si se le ha retirado o no la capa leucoplaquetaria, si se trata de una unidad en la que el procesamiento de obtención de plaquetas fue por plasma rico en plaquetas, o si se ha utilizado un filtro pre-almacenamiento, por ello, es importante considerar estos datos de obtención para establecer si cumplen o no los parámetros de calidad que se encuentran establecidos en la normativa.

Posterior al procesamiento:

- Inspeccionar visualmente todas las unidades. En caso de que la unidad tenga evidencia de ruptura, daño o defecto en la bolsa, aire excesivo o cualquier otra alteración con la presencia de coágulos, debe darse destino final.
- Determinar la frecuencia de muestreo de acuerdo a la producción mensual y programar, es conveniente realizar semanalmente el control de calidad.
- Seleccionar aleatoriamente unidades para realizar el control de calidad. Es recomendable utilizar aproximadamente 5 a 10 unidades semanales de acuerdo a la obtención mensual, esto es, para tener una muestra representativa, es recomendable hacer el CC de los CE´s que provienen de las ST´s previamente estudiadas con la finalidad de dar seguimiento al procesamiento, principalmente la centrifugación.

- Homogeneizar el contenido de la tubuladura con la unidad, ayudándose de unas pinzas de rodillo o una pinza, con la unidad mínimo 3 veces, mezclando el contenido de la bolsa perfectamente con la tubuladura, tomando el extremo distal y retrayendo el contenido de la tubuladura hacia la bolsa, de tal forma que se obtenga una muestra representativa del contenido de la bolsa.

- Sellar la tubuladura aproximadamente a 2 cm del extremo distal de la bolsa, sellar y cortar, es importante tomar lo mínimo necesario para dejar suficiente tubuladura para ser utilizado en

[8] Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. (2023). EDQM, Council of Europe. 21th Edition.

las pruebas de compatibilidad, colocar el contenido en un tubo de plástico para realizar la determinación de hemoglobina y hematocrito de la unidad.

- Con la muestra obtenida determinar la Hemoglobina (Hb) y hematocrito (Hto) de la unidad de acuerdo a la técnica descrita en el capítulo 1 página 31 de esta guía, considerar si es necesario realizar una dilución de la muestra, dependiendo de la cantidad máxima de lectura y la linealidad del equipo analizador.

- Los resultados de la Hb y Hto de la unidad dependerá del tipo de CE y se encuentran referenciados en la Tabla 2 parámetros de calidad de concentrados de eritrocitos.

- Si al concentrado de eritrocitos se le ha removido la capa leucoplaquetaria realizar la determinación de leucocitos residuales de acuerdo a la técnica descrita en el capítulo 1 página 33 de esta guía. El requisito de calidad de la cuenta de leucocitos residuales del CE sin capa leucoplaquetaria se encuentra referenciado en la Tabla 2 parámetros de calidad de concentrados de eritrocitos. En caso de que el CE sin capa leucoplaquetaria no cumpla con el requisito de calidad de $<1.2 \times 10^9$ leucos por unidad, se podrá filtrar y no se dará destino final, o anotar la cantidad de leucocitos residuales en la bolsa y sugerir el uso de filtro a pie de cama.

  Nota: Las unidades no conformes por número de leucocitos obtener el porcentaje considerando que el 100% son las unidades producidas al mes, y con base a la gestión de riesgos analizar el proceso y buscar la causa raíz para solucionar esta problemática, la revisión deberá incluir todos los aspectos que podrían afectar la cantidad de leucocitos en los CE´s, considerando desde selección del donador, la centrifugación, la separación y la competencia de los operadores. Aplicar acciones correctivas para que las unidades cumplan con el requisito de calidad.

- Si al concentrado de eritrocitos ha sido filtrado, CE leucodepletado, la determinación de leucocitos residuales se realizará de acuerdo a la técnica descrita en el capítulo 6 de esta guía. El requisito de calidad de la cuenta de leucocitos residuales del CE leucodepletado se encuentra referenciado en la Tabla 2 parámetros de calidad de concentrados de eritrocitos.

- Si se cuenta con una unidad que haya llegado a su término de vigencia determinar el porcentaje de hemólisis de la masa eritrocítica la cual no deberá ser mayor del 0.8% de acuerdo a la técnica descrita en el capítulo 1 página 41 de esta guía.

- La técnica para realizar el control microbiológico del CE en general se encuentra descrito en el capítulo 7 de esta guía.

Ante la gran variedad de concentrados de eritrocitos que se pueden obtener en los bancos de sangre es importante realizar algunas consideraciones posteriores a su procesamiento con la finalidad de cumplir con los parámetros de calidad.

- Para determinar el volumen se procederá de acuerdo a la técnica descrita en el capítulo 1 página 27 de esta guía.
- El volumen del CE depende del proceso y tipo de bolsa, por lo que debe considerar si tiene solución aditiva o si el plasma es la solución de conservación para realizar los cálculos. El requisito de calidad del volumen de los diferentes CE´s se encuentran referenciados en la Tabla 2 parámetros de calidad de concentrados de eritrocitos.
- Para los cálculos de volumen utilizar la densidad del CE dependiendo del anticoagulante y solución aditiva que se utilicen.
- Concentrado de eritrocitos con CPDA + Solución aditiva: 1.065 g/mL.
- Concentrado de eritrocitos con CPDA-1: 1.083 g/mL.
- Calcular el peso de las bolsas vacías de acuerdo al sistema utilizado, si contiene solución aditiva o no, debido a que la solución aditiva forma parte del volumen.

Casos especiales:

Como se mencionó en el capítulo 2, hay ocasiones en la que se puede obtener el CE proveniente de una ST de bajo volumen (300 a 405 mL), y evitar dar destino final, por lo que se deberá proceder de la siguiente manera:

- Centrifugar la unidad de ST de bajo volumen en las mismas condiciones que se tienen descritas en el Banco de Sangre.
- Procesar la unidad de ST posterior a la centrifugación en el extractor de plasma con las mismas condiciones y programas que se determinaron en el banco de sangre, de igual manera que las demás unidades, considerar que el volumen de la capa leucoplaquetaria sea la mínima con la finalidad de obtener mayor cantidad de CE.
- Obtener el CE de acuerdo al procedimiento del banco de sangre.
- En caso de que el CE contenga solución aditiva calcular el volumen, hemoglobina y hematocrito y comparar contra los parámetros de calidad descritos en la Tabla 2.
    1. Si el volumen es menor de 200 mL, se deberá ajustar la solución aditiva, debido a que la cantidad de ésta es de 100 mL y por lo tanto no se cumple con el hematocrito mínimo requerido 50%.

2. Se puede ajustar el volumen utilizando la fórmula:

$$V = \frac{peso\ bruto\ del\ componente\ (g) - peso\ de\ la\ bolsa\ vacía(g)}{\delta\ del\ componente\ (\frac{g}{mL})}$$

3. Calcular el volumen que debe ser descartado.
4. A la unidad de CE se le unirá una bolsa transfer con ayuda de un conector estéril para evitar contaminar la unidad y se eliminará la cantidad necesaria de solución aditiva hasta obtener un hematocrito de 50 a 70 %.
5. Una vez realizado el ajuste de volumen de solución aditiva, y verificando que la hemoglobina y el hematocrito se encuentren dentro de los parámetros de calidad requeridos por la normativa, se podrá utilizar para fines terapéuticos.
6. Si el volumen es bajo y no puede utilizarse en un adulto, considerar realizar fracciones pediátricas para ser transfundido en infantes o pacientes pediátricos o recién nacidos, etc.
7. Realizar las acciones necesarias para recuperar unidades de CE y evitar darles destino final.

Tabla 2. Parámetros de calidad de concentrados de eritrocitos.

Componente	Información técnica	Volumen (mL por unidad)	Hemoglobina (g por unidad)	Hematocrito	Leucocitos residuales por unidad
Concentrado de eritrocitos	De la ST remover la cantidad necesaria de plasma.	280 ±50 *	≥45*	0.65-0.75*	N/A
Concentrado de eritrocitos sin capa leuco-plaquetaria	De la ST remover la cantidad necesaria de plasma y de capa leucoplaqueta ria.	250 ±50*	≥45*	0.65-0.75*	< 1.2 x 10^9.
Concentrado de eritrocitos en solución aditiva	De la ST remover la cantidad máxima de	Depende del proceso*	≥45*	0.50-0.70*	N/A

Componente	Información técnica	Volumen (mL por unidad)	Hemoglobina (g por unidad)	Hematocrito	Leucocitos residuales por unidad
	plasma y adicionar solución aditiva.				
Concentrado de eritrocitos sin capa leucoplaquetaria en solución aditiva.	De la ST remover la cantidad máxima de plasma y capa leucoplaqueta ria, adicionar solución aditiva.	Depende del proceso*	≥45*	0.50-0.70*	<1.2 x 10^9.
Concentrado de eritrocitos leucodepleta do en sol. aditiva	De la ST remover la cantidad máxima de plasma y filtrar, , adicionar solución aditiva	Depende del proceso*	≥43*	0.50-0.70*	< 1.0 x 10^6.
Concentrado de eritrocitos obtenido por aféresis	CE colectado de acuerdo al equipo utilizado.	Depende del proceso*	≥40*	0.65-0.75 sin sol. aditiva.* 0.50-0.70 con sol aditiva.*	Depende del uso de filtros

Nota: Adaptada de tabla *"Whole blood and red cell components"*, contenida en *Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. (2023) 21th Edition. * Se debe utilizar el control estadístico del proceso.*

Para determinar el volumen de los CE´s que contienen solución aditiva se debe determinar de acuerdo al proceso que se realice, estableciendo máximos y mínimos, de acuerdo al tipo de bolsa, utilizando las herramientas estadísticas que se describen en el capítulo 8 de esta guía.

Si se encuentran unidades cuyo volumen se encuentre por debajo de los rangos mínimo o máximo del volumen establecido por control estadístico de proceso, las unidades NO deben ser descartadas si solo se basa en el volumen. Se debe analizar y tener un protocolo de rescate y recuperación de

éstos CE´s, ajustando volumen en concordancia con los otros parámetros (Hb, Hto y cuenta de leucocitos) cumplan con lo establecido en la tabla 2 parámetros de calidad de CE.

Nota: El volumen de los CE´s dependerá de la dosis terapéutica que se requiera, el padecimiento y al paciente al cual vaya a transfundirse, de tal forma, que se tienen pacientes recién nacidos, infantes, pediátricos y adultos cuyo volumen sanguíneo total es variable, por ello, la decisión de transfundir la dosis terapéutica adecuada será determinada por el médico tratante y el banco de sangre deberá proveer las unidades de acuerdo a lo que se solicite.

12. Capítulo 4.

- **Plasma fresco, plasma desprovisto de factores lábiles y crioprecipitado.**

Plasma Fresco, Plasma Desprovisto de Factores Lábiles.

El plasma es el componente líquido al cual se le han separado las células sanguíneas y se puede obtener a partir de ST o por procedimientos de aféresis. La calidad depende de condiciones especiales y específicas de extracción, procesamiento y conservación; estas condiciones pueden ser consignadas en un registro como parte del sistema de gestión de calidad y realizar un seguimiento para conservar adecuadamente las propiedades procoagulantes en caso del plasma fresco, entre las condiciones óptimas se tiene que:

1. Si se extrae ST fresca se debe anotar hora de inicio y término de la flebotomía, el tiempo no debe exceder 15 minutos. En caso de que se exceda ese tiempo se procederá a obtener el CE por centrifugación a alta velocidad y el plasma debe darle destino final por pérdida de propiedades procoagulantes.
2. Se debe anotar hora de extracción e inicio de procesamiento, si el tiempo entre la obtención y el procesamiento exceden las 6 a 8 horas de acuerdo a los estándares europeos o de la AABB respectivamente, el plasma deberá ser clasificado como PLASMA DESPROVISTO DE FACTORES LÁBILES (PDFL) y no se considerará como plasma fresco.
3. Si el plasma es obtenido por procedimientos de aféresis (plasmaféresis) no deben exceder 6 horas posterior a su extracción y congelación para ser considerado Plasma Fresco (PF).

   Nota: El Plasma Fresco es el componente que más frecuentemente se utiliza con fines transfusionales, aunque, el plasma desprovisto de factores lábiles también tiene fines transfusionales para pacientes

que sufran algún problema con factores lábiles, y que así lo requieran por lo que es importante valorar conservar algunas unidades para transfundir.

Posterior al procesamiento:

1. Inspeccionar visualmente todas las unidades. En caso de que la unidad tenga lipemia o una coloración no usual, evidencia de ruptura, daño o defecto en la bolsa, aire excesivo o cualquier otra alteración como exceso de glóbulos rojos, debe darse destino final.
2. Determinar la frecuencia de muestreo de acuerdo a la producción mensual y programar, es conveniente realizar semanalmente el control de calidad.
3. Seleccionar aleatoriamente unidades para realizar el control de calidad, es recomendable utilizar aproximadamente 5 a 10 unidades semanales de acuerdo a la obtención mensual, esto es, para tener una muestra representativa, es recomendable hacer el CC de los plasmas que provienen de las ST´s previamente estudiadas con la finalidad de dar seguimiento al procesamiento, principalmente la centrifugación.
4. Solicitar al personal de procesamiento deje una longitud de la línea de tubuladura aproximadamente de 8 a 9 cm para poder realizar las determinaciones analíticas.
5. Determinar el volumen de la unidad de plasma se procederá de acuerdo a la técnica descrita en el capítulo 1 página 27 de esta guía. Considerar que la δ del plasma es = 1.027 $\frac{g}{mL}$.
6. Conservar la unidad a una temperatura de cuarto entre 4 a 10°C, para evitar pérdida de factores procoagulantes.
7. Homogeneizar el contenido de la tubuladura con la unidad, ayudándose de unas pinzas de rodillo o una pinza, con la unidad mínimo 3 veces, mezclando el contenido de la bolsa perfectamente con la tubuladura, tomando el extremo distal y retrayendo el contenido de la tubuladura hacia la bolsa, de tal forma que se obtenga una muestra representativa del contenido de la bolsa.
8. Sellar la tubuladura aproximadamente a 7 cm del extremo distal de la bolsa la bolsa, sellar y cortar, es importante tomar lo mínimo necesario para dejar suficiente tubuladura para ser utilizado en caso de realizarse para las pruebas de compatibilidad,

colocar el contenido en un tubo de plástico (no emplear tubo de vidrio) para realizar las determinaciones a la unidad.

9. Posterior a la separación de la tubuladura de la muestra, la unidad de plasma debe ser retornada al inventario y debe ser congelada inmediatamente para evitar la pérdida de factores procoagulantes.

10. Una vez obtenidas las muestras hacer la determinación de celularidad se procederá de acuerdo a la técnica descrita en el capítulo 1 página 33 de esta guía.

    Nota: En caso de incumplimiento en el resultado de la celularidad, investigar las causas probables y aplicar acciones correctivas. Dentro de las causas más comunes podrían ser una centrifugación ineficiente, rebote de la unidad posterior a la centrifugación por aplicación de freno, por mala manipulación al retirar la unidad de la centrífuga etc.

11. Realizar la cuantificación de proteínas totales se procederá de acuerdo a la técnica descrita en el capítulo 1 página 44 de esta guía.

12. Los parámetros de calidad establecidos para el plasma fresco se describen en la tabla 3. Parámetros de calidad plasma y crioprecipitado.

Crioprecipitado

El crioprecipitado es la fracción proteica del plasma fresco congelado que precipita al descongelarse en condiciones controladas. Cuando se resuspende en una cantidad mínima de plasma (aproximadamentre 30 a 40 mL), se puede utilizar como unidad o en mezcla; las condiciones de calidad dependen de la preparación. Contiene una proporción mayor de factor VIII, factor de von Willebrand, fibrinógeno, factor XIII y fibronectina.

La preparación del crioprecipitado se realiza por varios métodos que consisten en procesos de congelamiento y descongelamiento a una temperatura entre 2-6 °C y centrifugaciones posteriores.

Las determinaciones analíticas que se realizan a los crioprecipitados son:

1. Los crioprecipitados se descongelan a una temperatura de 37°C y se conservan de 22 a 24°C o en refrigeración de 2 a 6°C.
2. Determinación de volumen, la cual se procederá de acuerdo a la técnica descrita en el capítulo 1 página 27 de esta guía. Considerar que la δ del crioprecipitado es = 1.024 $\frac{g}{mL}$.

3. Se toma una muestra para realizar la determinación de FVIIIc. Este análisis dependerá si el crioprecipitado es utilizado para transfundir pacientes hemofílicos, si no se requiere para estos pacientes no se realiza.
4. La muestra también se utiliza para determinar el Factor vW (FvW) Este análisis dependerá si el crioprecipitado es utilizado para transfundir pacientes deficientes de FvW, si no se requiere para estos pacientes no se realiza.

Determinación de Factor VIIIc[9].

Se emplea una técnica coágulométrica para medir la actividad del factor VIIIc, que es un factor de coagulación de origen proteico. Se trata de un factor de la coagulación que se degrada cuando no se conserva adecuadamente y tiene una vida media corta de 8 a 12 horas por lo que es considerado un factor lábil. La determinación del factor VIIIc proporciona información sobre la conservación del plasma.

Recomendaciones Generales para realizar la prueba:

- La muestra puede ser procesada antes de ser congelada.
- En caso de que la muestra sea congelada se deberá realizar un protocolo de verificación para determinar en qué medida se afecta la actividad del FVIIIc.
- Identificar correctamente la muestra en caso de que sea congelada y evitar que se borre.
- Si la muestra se congela, las condiciones de congelación deberán ser las mismas en las que se conservan los plasmas de origen.
- La muestra deberá permanecer en todo momento de la determinación en un recipiente de preferencia con hielo escarchado para evitar degradación del FVIIIc.
- En el caso de que la muestra sea maquilada, se deberá elaborar un protocolo de conservación y transporte asegurando que el factor VIIIc no se deteriore durante el transporte al sitio donde se hará la determinación.

[9] Factor VIII (factor antihemofílico A) - Health Library. https://myhealth.ucsd.edu.

- Si la muestra fue congelada, debe ser descongelada a temperatura controlada de 37°C en baño maría y posteriormente conservada a una temperatura de 20 -24°C, preferentemente si se cuenta con el recurso en un recipiente con hielo escarchado.
- El tiempo utilizado durante la realización de la prueba es crucial por lo que no debe tardar más del tiempo necesario, debido a que puede haber degradación del FVIIIc, este tiempo debe ser analizado y establecido por el laboratorio que realice la prueba con base a sus procedimientos.
- Como parte del control de calidad de la prueba se recomienda obtener plasma fresco de donadores sanos, se toman entre 20 a 30 muestras de donadores hombres en tubos de tapón azul especiales para pruebas de coagulación. Se centrifugan a 200 g y se separa el plasma. Se realiza la separación del plasma de todas las muestras y se mezclan para obtener una mezcla de plasma. Se hacen alícuotas de aproximadamente 0.5 mL y se congelan, en el mismo congelador que las muestras de los plasmas que se van a estudiar. Cada vez que se realiza la prueba se descongela un tubo de plasma normal como testigo y se trabaja a la par de la muestra problema, de esta manera se busca tener controlada la prueba.

Fundamento de la técnica:

La determinación cuantitativa del FVIIIc consiste en medir el tiempo de coagulación de una muestra diluida que contiene el factor a determinar, en este caso el FVIII, con un plasma deficiente de FVIIIc, el cual aporta el resto de los factores en niveles óptimos, que, en presencia de fosfolípidos, superficies de cargas negativas y calcio (tiempo de tromboplastina parcial activado, TTPa) coagula. El tiempo de coagulación que se obtiene es inversamente proporcional a la actividad de FVIIIc que se encuentra en la muestra.

Técnica:

Esta determinación se puede realizar con cualquier instrumento que haga la prueba de TTPa, y dependerá de las instrucciones del fabricante. Debido a que el resultado que se obtiene es en medida de tiempo (segundos) se debe utilizar un calibrador con 100% de actividad de FVIIIc para elaborar la curva de calibración. Este calibrador se solicita al fabricante del equipo.

- Realizar diluciones del calibrador con el diluyente del Kit comercial (buffer de imidazol). Las diluciones que se emplean son 1:25, 1:50, 1:75 y el calibrador al 100%. Generalmente el equipo realiza estas diluciones.
- Seguir las indicaciones del fabricante para la realización de la prueba de TTPa, colocando en el instrumento, el Cloruro de calcio 25 mM, el plasma deficiente de FVIII, el diluyente, el reactivo de TTPa, las muestras a estudiar y la mezcla de plasma normal como control de calidad.
- El equipo elaborará la curva de calibración que es una curva de regresión lineal donde la pendiente **m deberá ser de 1.0,** o, cercana a esta cifra. En caso de que **m** sea menor de 0.999 evaluar si se acepta o se vuelve a correr hasta obtener la pendiente deseada.
- Una vez que sea aceptada la curva de calibración se comenzarán a procesar las muestras y la mezcla de plasma normal.
- Los resultados de los plasmas problema se reporta en % de actividad, aunque algunos estándares requieren sea reportada en Unidades Internacionales (UI) por 100 mL con la siguiente fórmula:

100% Actividad de Factor VIII ⟷ 1 UI Factor VIII / mL de Muestra

% Actividad de Factor VIII en muestra de Crioprecipitado ⟷ X

$$\frac{\%\ \text{del factor VIII} \times 1\text{UI/mL}}{100\%} = \text{UI Factor VIII/ mL}$$

- Los parámetros de calidad del plasma y crioprecipitados para el FVIIIc se muestran en la tabla correspondiente.

Determinación de Fibrinógeno[10].

El uso de los crioprecipitados en la actualidad se realiza en pacientes cuya patología requiera cantidades importantes de fibrinógeno, por lo que esta prueba solo se realiza en este hemocomponente. La técnica que se realiza es la determinación del fibrinógeno de Clauss.

[10] Fibrinógeno, método Clauss. BioSystems, reagents and instruments. https://clinicord.com

Fundamento de la técnica:

El método de Clauss mide la tasa de conversión del fibrinógeno en fibrina en un plasma citratado y diluido en presencia de un exceso de trombina. El tiempo de coagulación medido es inversamente proporcional a la concentración de fibrinógeno.

Técnica:

Esta determinación se puede realizar con cualquier instrumento que haga la prueba de Tiempo de trombina y dependerá de las instrucciones del fabricante. Debido a que el resultado que se obtiene es en medida de tiempo (segundos) se debe utilizar un calibrador con una concentración conocida de fibrinógeno en mg/mL para elaborar la curva de calibración. Este calibrador se solicita al fabricante del equipo.

- Realizar diluciones del calibrador con el diluyente del Kit comercial (buffer de imidazol), las diluciones que se emplean son 1/25, 1/50, 1/75 y el calibrador al 100%. Generalmente el equipo realiza estas diluciones.
- Seguir las indicaciones del fabricante para la realización de la prueba de TT, colocando en el instrumento, el diluyente, el reactivo de TT, las muestras a estudiar y la mezcla de plasma normal como control de calidad.
- El equipo elaborará la curva de calibración que es una curva de regresión lineal donde la pendiente **m deberá ser de 1.0 o** cercana a esta cifra. En caso de que **m** sea menor de 0.999 evaluar si se acepta o se vuelve a correr hasta obtener la pendiente deseada.
- Una vez que sea aceptada la curva de calibración se comenzarán a procesar las muestras y la mezcla de plasma normal.
- Los resultados de los plasmas problema se reportan en mg/por unidad, por lo que se debe considerar el volumen del criopp.
- Los parámetros de calidad requeridos se encuentran referenciados en la tabla 3 Parámetros de calidad de plasmas y crioprecipitados (10).

Determinación de Factor de von Willebrand (FvW).

Existen diferentes técnicas para determinar el FvW, la más comúnmente utilizada es llamada “Actividad del factor de von Willebrand-cofactor de ristocetina”, que permite evaluar el funcionamiento de la proteína de vW, que interviene en la coagulación de la sangre.

La ristocetina es un antibiótico que propicia que el FvW y las plaquetas se agregen entre sí. Aunque no todos los laboratorios cuentan con la prueba en ocasiones se podrá enviar las muestras a maquilar, por lo que, es importante realizar un procedimiento validado de transporte de la muestra al laboratorio. Esta técnica solo se deberá realizar cuando el crioprecipitado sea utilizado en pacientes con Enfermedad de von Willebrand, para verificar la calidad del componente que será transfundido.

Tabla. Parámetros de calidad plasma y crioprecipitado

Componente	Información Técnica	Volumen	Factor VIII	Fibrinógeno	Otro
Plasma, fresco congelado	Proveniente de ST o Aféresis para transfusión o fraccionamiento, congelado para mantener el contenido de factores de coagulación	Volumen medio establecido en +/ – 10% por control estadístico de proceso*	Media post-congelación y descongelación ≥70 UI/100mL*	No aplica	Puede ser leucodepletado
Crioprecipitado	Obtenido de Plasma fresco, contiene la fracción de crioglobulina por un proceso de concentración.	30-40 mL	>o= 70 UI por unidad*	≥140 mg por unidad*	Puede ser leucodepletado. Factor VIII ≥70 UI y FvW > 100 UI por unidad, solo se realiza en caso de que sea utilizado en el tratamiento de pacientes con hemofilia o EvW.
Plasma fresco	Proveniente de ST o Aféresis para transfusión o fraccionamiento, congelado para mantener el contenido de factores de coagulación, previo a la congelación.	Volumen medio establecido en +/ – 10% por control estadístico de proceso*	No aplica		Cuenta residual celular: Glóbulos rojos: < 6.0 x 10^9/L Leucocitos: <0.1 x 10^9/L. Plaquetas: <50 x 10^9./L. Si es leucodepletado: <1.0 x 10^6.por unidad.

Nota: Adaptada de tabla *"Plasma components"*, contenida en *Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. (2023) 21th Edition.* Se debe seguir el control estadístico del proceso.*

13. Capítulo 5.

- ## Concentrado Plaquetario.

Los concentrados de plaquetas provienen de una unidad de ST, o por procedimientos de aféresis. El procesamiento de obtención de concentrados de plaquetas a partir de unidades de ST se realiza por dos métodos:

a. Plasma Rico en Plaquetas (PRP).
b. Capa leucoplaquetaria (*buffy - coat*).

En ambos casos las condiciones de preparación son distintas, tanto en conservación, parámetros de centrifugación, temperatura y tiempo de procesamiento. Los parámetros de calidad de los concentrados de plaquetas unitarios son diferentes de acuerdo al método de obtención y se muestran en la tabla correspondiente. “Parámetros de calidad de los concentrados de plaquetas”. Actualmente es muy común realizar mezclas de concentrados plaquetarios que se pueden obtener de unidades de plasma rico en plaquetas o utilizando unidades de capa leucoplaquetaria, teniendo la precaución de que las unidades que serán mezcladas para elaborar una unidad, sean del mismo grupo sanguíneo ABO, y utilizar bolsas de contención con el volumen y la permeabilidad a gases requerida para evitar que las mezclas sufran deterioro y se disminuya su viabilidad. Todo el procedimiento deberá ser utilizando conector estéril con el objetivo de no contaminar la mezcla y mantener la vigencia. Los parámetros de calidad de estas mezclas se encuentran referenciados en la tabla de “Parámetros de calidad de los concentrados de plaquetas”.

En caso de agregar solución aditiva, a los concentrados plaquetarios, a la mezcla o los obtenidos por aféresis, éstos deberán contener la dosis terapéutica mínima requerida para transfusión de acuerdo al paciente al cual vaya dirigido y se deberán respetar las proporciones de plasma en un 30% a 40% y de solución aditiva de un 60% a 70% .

Frecuencia y cantidad

El control de calidad de los concentrados plaquetarios debe realizarse semanalmente y contar con un programa de muestreo haciendo un seguimiento desde la unidad de ST de la cual se obtuvo la capa leucoplaquetaria, para verificar y asegurar todas las condiciones de procesamiento,

centrifugación y obtención, así como después de cada mantenimiento preventivo o correctivo de los equipos involucrados en el proceso general.

La frecuencia del muestreo también se puede determinar por el control estadístico de proceso como se muestra en el capítulo 8 de esta guía.

Toma de muestras[11].

Posterior al procesamiento:

- Inspeccionar visualmente todas las unidades. En caso de que la unidad tenga evidencia de ruptura, daño o defecto en la bolsa, aire excesivo o cualquier otra alteración como agregados plaquetarios, debe darse destino final.
- Todos los concentrados plaquetarios deben ser inspeccionados visualmente, en cada etapa del procesamiento e inmediatamente antes de ser distribuidos a los servicios de transfusión u otros bancos de sangre.
- La inspección visual deberá realizarse en un espacio con las condiciones de iluminación adecuadas, verificando lo siguiente:
  - Presencia de “remolino”.
  - Ausencia de agregados plaquetarios o restos de fibrina.
  - Ausencia de coágulos.
  - Los concentrados plaquetarios que tengan contaminación eritrocitaria mayor a 1 mL, pueden utilizarse para uso transfusional, realizando las pruebas pretransfusionales correspondientes.
  - Las unidades con coloración verde (secundaria al uso de anticonceptivos orales) o naranja (secundaria al consumo de vitamina A y carotenos), son aceptables para su uso transfusional.
  - Revisar la tabla 5. Guía rápida visual para la inspección de concentrados plaquetarios o mezclas de éstos, obtenidas por PRP[12].
- Determinar la frecuencia de muestreo de acuerdo con la producción mensual y programar, es conveniente realizar semanalmente el control de calidad o determinar la frecuencia por medio del control estadístico de proceso (ver capítulo 8 de esta guía).

[11] Cohn, C.S. (2020). Technical manual (20 Ed). American Association of Blood Banks
[12] Acker J. (2009). Visual Assessment Guide. Canadian Blood Services

- Seleccionar aleatoriamente unidades para realizar el control de calidad, es recomendable utilizar aproximadamente 5 a 10 unidades semanales de acuerdo con la obtención mensual, esto es, para tener una muestra representativa es recomendable hacer el CC de los CPs que provienen de las ST´s previamente estudiadas con la finalidad de dar seguimiento al procesamiento, principalmente la centrifugación.
- Solicitar al personal de procesamiento que deje una longitud de la línea de tubuladura aproximadamente de 8 a 9 cm para poder realizar las determinaciones analíticas.

  Nota: para el caso de las aféresis o mezcla de concentrados plaquetarios, para poder realizar el control bacteriológico es conveniente utilizar un conector estéril y transferir la cantidad necesaria a una bolsa de transferencia y cultivar inmediatamente para evitar contaminación por mal manejo o realizar el cultivo en condiciones de esterilidad y retornar el componente al inventario.
- Las determinaciones analíticas se deberán realizar preferentemente después de las 24 horas posteriores a la obtención del CP, tanto de aféresis como los unitarios y las mezclas, debido a que posterior al procesamiento las plaquetas tienden a formar grumos los cuales se disuelven por efecto de la agitación.
- Determinar el volumen de la unidad de concentrados plaquetario unitarios, mezcla o aféresis, considerando el peso de la bolsa vacía de acuerdo al componente correspondiente, se procederá de acuerdo a la técnica descrita en el capítulo 1 página 27 de esta guía. Considerar que la δ de los concentrados de plaquetas obtenidos por aféresis es = 1.03 $\frac{g}{mL}$ y para los concentrados plaquetarios unitarios a partir de ST es= 1.028 $\frac{g}{mL}$. Los parámetros de calidad se encuentran en la tabla de parámetros de calidad de concentrados de plaquetas.
- Conservar la unidad a una temperatura de cuarto entre 20-24°C, y mantenerla en agitación constante para evitar que las plaquetas se agreguen, es conveniente colocar la unidad de manera que la etiqueta no obstruya el intercambio gaseoso de la unidad.
- Homogeneizar el contenido de la tubuladura con la unidad con ayuda de unas pinzas de rodillo o una pinza, con la unidad mínimo 3 veces, mezclando el contenido de la bolsa perfectamente con la tubuladura, tomando el extremo distal y retrayendo el contenido de la tubuladura hacia la bolsa, de tal forma que se obtenga una muestra representativa del contenido de la bolsa.
- Sellar la tubuladura aproximadamente a 7 cm del extremo distal de la bolsa, sellar y cortar, colocar el contenido en un tubo de plástico para realizar las determinaciones a la unidad.

- Posterior a la separación de la tubuladura de la muestra, la unidad de concentrado de plaquetas debe ser retornada al inventario y colocarla en un incubador de plaquetas con temperatura controlada y agitación constante.
- Si los concentrados plaquetarios fueron sometidos a procesos de filtración prealmacenamiento, es necesario recolectar una muestra antes de comenzar el proceso de filtrado y otra al concluir.
- Una vez obtenidas las muestras hacer la determinación de celularidad se procederá de acuerdo a la técnica descrita en el capítulo 1 página 33 de esta guía. Los parámetros de calidad se encuentran en la tabla de parámetros de calidad de concentrados de plaquetas.

Nota: En caso de incumplimiento en el resultado de la celularidad, investigar las causas probables y aplicar acciones correctivas. Dentro de las causas más comunes pueden estar una centrifugación ineficiente, rebote de la unidad posterior a la centrifugación por aplicación de freno, por mala manipulación al retirar la unidad de la centrífuga, en el caso de la obtención a partir de la capa leucoplaquetaria, dentro de las causas se encuentra tiempo insuficiente de reposo, que no se logre una recuperación de plaquetas por mal manejo, etc. Por lo tanto, se deben valorar e investigar todas estas causas e implementar acciones correctivas.

- La medición del pH se debe realizar al término de la vigencia debido a que es un indicador de la conservación y almacenamiento de la unidad, y su disminución se puede atribuir a las lesiones que sufren las plaquetas por el almacenamiento, adicionalmente es un método indirecto que permite detectar contaminación bacteriana y evaluar lesiones ocurridas en las plaquetas durante su almacenamiento. Para la determinación de pH se procederá de acuerdo a la técnica descrita en el capítulo 1 página 38 de esta guía. Los parámetros de calidad se encuentran en la tabla de parámetros de calidad de concentrados de plaquetas.

  Nota: La medición del pH debe realizarse inmediatamente después de la recolección de las muestras, en las unidades que son destinadas para control de calidad, debido a que al abrir el sistema se produce liberación de CO_2 y la consecuente alteración del pH.

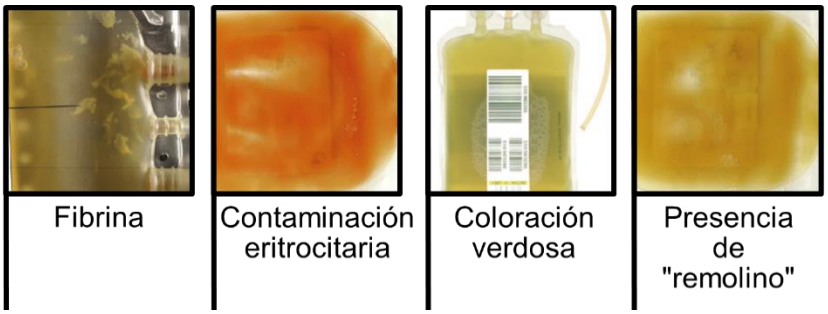
Control microbiológico.

El control microbiológico se realizará de acuerdo con la técnica descrita en el capítulo 7 de esta guía.

Inspección visual.

Es importante contar con una guía visual que permita una mejor inspección de los concentrados de plaquetas, como se muestra en la tabla 5, con la finalidad de disminuir las discrepancias entre el personal que realiza el análisis.

Tabla 5. Guía rápida visual para la inspección de concentrados plaquetarios o mezclas de éstos, obtenidas por PRP[13].



Nota: Adaptada de Visual Assessment Guide (2009). Canadian Blood Services.

La NOM 253, establece que las personas candidatas a donar que sean detectadas con muestras sanguíneas con lipemia mayor o igual a 3+ serán diferidas por 24 horas, para nueva toma de muestra y revaloración de la lipemia; sin embargo, tanto en plasmas como en CP y aféresis esporádicamente se observan unidades lipemicas, las cuales si pueden ser empleadas para transfusión.

[13] Acker J. (2009). Visual Assessment Guide. Canadian Blood Services

Tabla de Parámetros de calidad concentrados de plaquetas[14].

Componente	Información Técnica	Volumen	Plaquetas contenida por unidad	Leucocitos residuales por unidad	pH a término de vigencia
Plaquetas unitarias	Proveniente de una unidad de ST suspendida en plasma	Volumen validado para contener una concentración de plaquetas de 0.6×10^{11} plaquetas. O por control estadístico de proceso*	$> 0.6 \times 10^{11}$ plaquetas. O por control estadístico de proceso*	Preparado a partir de capa leucoplaquetaria: $\leq 0.05\ 10^{9}$. Preparado a partir de PRP o por centrifugación simple: $\leq 0.2 \times 10^{9}$. El 90% de las unidades.	> 7.2
Mezclas de concentrados plaquetarios	Mezcla obtenido de 4 a 6 unidades generalmente.	Volumen validado para contener una concentración de $> 2 \times 10^{11}$. O por control estadístico de proceso*	$> 2 \times 10^{11}$ plaquetas. O por control estadístico de proceso*	Preparado a partir de capa leucoplaquetaria: $\leq 0.3\ 10^{9}$. Preparado a partir de PRP $\leq 1 \times 10^{9}$. *	7.2
Plaquetas por aféresis	Obtenida por un procedimiento de aféresis.	Volumen de acuerdo a la concentración de plaquetas obtenido o por control estadístico de proceso*	$> 2 \times 10^{11}$ plaquetas. $\geq 0.5 \times 10^{11}$ para infantes o neonatos. O por control estadístico de proceso*	$\leq 1 \times 10^{9}$. *	7.2
Plaquetas obtenidas en mezclas o por aféresis leucodepletadas.	Obtenidas por filtración o por el método de aféresis que disminuya más de 3 logaritmos	Volumen de acuerdo a la concentración de plaquetas obtenido o por control estadístico de proceso*	$> 2 \times 10^{11}$ plaquetas. $\geq 0.5 \times 10^{11}$ para infantes o neonatos. O por control estadístico de proceso*	$\leq 1 \times 10^{6}$. *	7.2

Nota: Adaptada de tabla *"Platelet components"*, contenida en *Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. (2023) 21th Edition.* Se debe seguir el control estadístico del proceso.*

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

14. Capítulo 6.

- ## Leucocitos Residuales en Procesos de Leucodepleción.

Un componente sanguíneo se considera leucodepletado cuando el conteo de los leucocitos por filtración o métodos de leucorreducción se disminuye en más de 3 logaritmos el número total de leucocitos residuales por componente, como es el caso de algunas máquinas de aféresis en donde la cantidad de leucocitos requieran técnicas con una sensibilidad analítica de detectar hasta 1 leucocito por μL. Las técnicas disponibles son manuales o automatizadas y se encuentran validadas.

Las muestras para conteo de leucocitos residuales deben ser obtenidas y evaluadas dentro de las primeras 72 horas posteriores a la donación, debido a que los leucocitos sufren deterioro al mantenerse refrigerados. Cuando el componente a estudiar contenga glóbulos rojos, se recomienda que el hematocrito no exceda 60%.

Recuento en Cámara de Nageotte de leucocitos residuales en componentes sanguíneos leucodepletados.

Este método de cuantificación es un recuento visual de leucocitos residuales, cuya sensibilidad analítica es de 1 leucocito / µL y se utiliza para cuantificar los leucocitos residuales en componentes sanguíneos leucodepletados o cuando haya una leucorreducción de más de 3 logaritmos por el método en algunos equipos de aféresis.

La exactitud de este método es mejor debido a que tiene un volumen 56 veces mayor y es posible examinar un volumen mayor de la muestra mínimamente diluida.

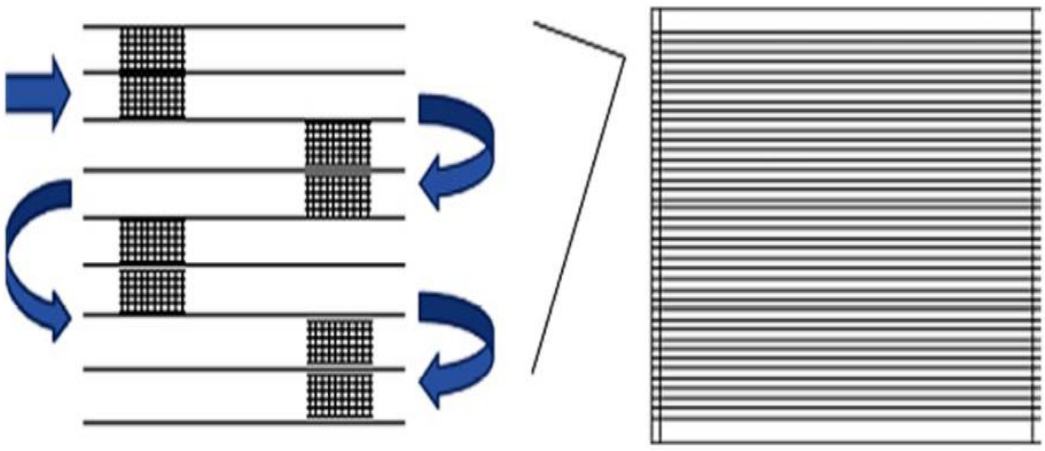
Se debe contar con Cámara de Nageotte, cubreobjetos grande, solución de Turk (ácido acético 1% y cristal violeta 0.01%), guantes sin talco, tubos de ensayo plásticos, caja de Petri plástica, papel filtro, micropipetas 10 µL, 100 µL y 1,000 µL con sus respectivas puntas desechables y microscopio.

Técnica[15]:

- Realizar una dilución 1:10 con 100 µL de la muestra correspondiente (componente a estudiar) con 900 µL de solución de Turk.
- Pipetear varias veces teniendo la precaución de asegurar la homogeneización de la mezcla.
- Dejar en reposo por 10 minutos para que se inicie la lisis de los eritrocitos.
- Dispensar 500 µL de la muestra diluida, en la cámara de Nageotte, vigilando que no se formen burbujas.
- Dejar en reposo durante 15 minutos en una caja de Petri con papel filtro humedecido para que no se seque la muestra y se logre sedimentar los leucocitos.
- Realizar el conteo en un microscopio en un tiempo no mayor a 30 minutos.
- Realizar el conteo en forma de barrido de un lado a otro en la superficie delineada (cuadrante). contando los 40 rectángulos que forman el cuadrante, como se muestra en la fig. 13 *conteo en barrido en la cámara de nageotte*, incluir los leucocitos que tocan los bordes.
- Realizar el conteo por duplicado, en un segundo cuadrante, tal y como se realizó en el primer cuadrante.

Figura 13

Conteo en "barrido" en la Cámara de Nageotte.



[15] Herrera Hernández A., Ramírez Cerón C. (2011), Guía de control de calidad de componentes sanguíneos. Instituto Nacional de Salud. Colombia.

Los cálculos se realizarán de la siguiente forma:

$$\text{Leucocitos / µL} = \frac{\text{Número de leucocitos contados en los 2 cuadrantes x Factor de dilución (10)}}{\text{Volumen del conteo (100 µL)}}$$

Leucocitos totales en el componente sanguíneo (Leucocitos / unidad) = Leucocitos / µL x 1,000 x volumen del componente sanguíneo (mL)

Nota: Si no se visualizan células en cualquiera de las cámaras de conteo, los leucocitos residuales son estimados por la multiplicación del umbral de sensibilidad del método, que es de 1 leucocitos/ µL por 1,000; después por el volumen del componente (mL). Esto representa los leucocitos residuales en el componente.

Citometría de Flujo

La citometría de flujo es una técnica automatizada (método de impedancia eléctrica para determinar la distribución de conteo y tamaño de las células de la sangre o método de láser); que tiene como límite inferior de detección, un valor aproximado a 0.1 leucocitos/ µL.

Existen varias técnicas actualmente que utilizan la citometría de flujo para determinar leucocitos residuales y depende del fabricante. Es importante seguir las instrucciones del fabricante para la operación del instrumento, por lo que la técnica deberá encontrarse descrita en un manual de operador.

Este método se basa en el conteo celular a partir de las características de dispersión de luz y fluorescencia que muestran las células al pasar a través de un haz de luz, mediante el uso de moléculas marcadas con fluorocromos o anticuerpos monoclonales marcados. La calibración y controles de calidad deberán utilizarse de acuerdo a lo determinado por el fabricante.

Para realizar el conteo de leucocitos residuales por citometría de flujo, la muestra que se analizará se lisa y permeabiliza con el fin de eliminar los glóbulos rojos y preparar las células para la siguiente fase,

en la cual mediante la adición de ARNasas se elimina el ARN, de manera que, en su ausencia, el reactivo de marcaje o tinción se une específicamente al ADN de doble cadena de las células nucleadas de la muestra, así el citómetro de flujo mide la fluorescencia proporcional al contenido de ADN de cada una de las células marcadas mientras pasan a través del rayo láser, dado que las plaquetas y eritrocitos maduros, no contienen ADN, las células marcadas representan el componente leucocitario de la muestra analizada.

Tras el análisis se calcula el recuento absoluto, que representa el número absoluto de leucocitos en dicha muestra, siguiendo las instrucciones determinadas por el fabricante para tal fin.

15. Capítulo 7.

- ## Control de calidad microbiológico

La contaminación microbiana se define como la presencia de bacterias en la sangre o componentes sanguíneos que se recolectan y/o procesan para transfusión. Para evitar su contaminación, la sangre debe ser recolectada y procesada siguiendo técnicas asépticas. Aun así, la contaminación microbiana puede ocurrir como resultado de causas del donante o durante la recolección y procesamiento[16]**.** La contaminación microbiana de componentes sanguíneos puede provocar reacciones transfusionales sépticas que pueden ser fatales[17]. A pesar de que una mayor frecuencia de casos de sepsis está relacionada con el uso de componentes plaquetarios almacenados a temperatura ambiente, se tiene conocimiento de casos relacionados con componentes descongelados por inmersión en baño de agua y los componentes con eritrocitos almacenados durante varias semanas entre 1 y 6 °C. Algunos microorganismos capaces de multiplicarse a bajas temperaturas y los que utilizan citrato como nutriente se han asociado con componentes que contienen eritrocitos[18]. Por lo anterior, se han desarrollado diversas estrategias que, en conjunto,

16 Agzie, M., Niguse, S., Tsegay, E., Kahsay, G., & Mahmud, M. A. (2019). Bacterial contaminants of stored blood and blood components ready for transfusion at blood banks in Mekelle, Northern Ethiopia. BMC Research Notes, 12(1), 169. https://doi.org/10.1186/s13104-019-4217-0

17 Gorlin, J. B. (2019). Bacterial Screening. En Transfusion Medicine and Hemostasis (pp. 97–100). Elsevier.

18 An acceptable circular of information for the use of human blood and blood components guidance for industry. (2022). Fda.gov. https://www.fda.gov/media/86898/download

permiten disminuir el riesgo de contaminación microbiana de los diferentes componentes sanguíneos.

Estrategias para disminuir la contaminación microbiana en componentes sanguíneos.

Objetivo	Estrategia
Prevención de la contaminación	Criterios de selección para donantes Sistemas de colecta cerrados Preparación de la piel para punción
Reducción de la contaminación	Uso de la bolsa de derivación o en recolecciones automatizadas, retorno al donante de 50-100 mL iniciales del volumen de recolección
Inhibición de la contaminación	Bajas temperaturas de conservación Uso de soluciones aditivas
Inactivación de la contaminación	Inactivación de patógenos
Detección de la contaminación	Cultivo de componentes sanguíneos Pruebas rápidas de detección

Gorlin, J. B. (2019). Bacterial Screening. En Transfusion Medicine and Hemostasis (pp. 97–100). Elsevier.

En varios países del mundo las principales pruebas para detección de contaminación microbiológica de componentes sanguíneos que se utilizan son: el sistema de cultivo automatizado BacT/ALERT® (BioMériux) y BacTec (Beckton Dickinson), los cuales están basados en la medición del CO_2 producido por el metabolismo de los microorganismos, el cual es detectado mediante un sensor, de forma colorimétrica (BacT/ALERT®) o por una señal fluorescente (sistema BacTec). A su vez, se encuentra disponible el sistema VersaTREK que detecta el crecimiento bacteriano al medir cambios de presión en la botella de hemocultivo secundario al consumo o producción de gas. Otro principio utilizado en la detección de microorganismos contaminantes en preparados de plaquetas es el sistema Pall eBDS (Haemonetics Corporation®), el cual monitorea la concentración de oxígeno en el espacio superior de una bolsa satélite que se incuba a 37°C [19].

19 José Antonio Arroyo Pérez, Sandra Ramírez Arcos, Jesús Miranda Bonilla. (2020). Guía de control de calidad microbiológico de componentes plaquetarios para incrementar la seguridad en su uso clínico en México. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/577062/Gu_a_plaquetas_2020_formato.pdf

- **Control de calidad y verificación del proceso de asepsia.**

En condiciones fisiológicas, la piel constituye una barrera contra la entrada de microorganismos a los tejidos subyacentes, cualquier lesión que comprometa su integridad estructural (heridas, agujas, catéteres, etc.) puede representar un punto de entrada para los microorganismos. En este sentido, la colecta de sangre es un momento crítico en el que las bacterias presentes en la piel pueden ingresar al sistema de recolecta a través de la aguja de flebotomía o de un tapón de piel perforado por la aguja[20].

Por lo anterior, la piel es la fuente de contaminación un 80% de las unidades contaminadas con bacterias**.** Las técnicas y soluciones utilizadas para la desinfección de la piel varían entre diferentes centros; los agentes antisépticos de uso común incluyen solución de yodo povidona al 10% p/v, alcohol isopropílico al 70% v/v, gluconato de clorhexidina al 2% p/v o combinaciones de estos, y los métodos de aplicación incluyen algodón, hisopos, ampolletas y aplicadores. Aunque la desinfección adecuada es importante para garantizar la limpieza de los sitios de punción, ninguno de los métodos puede lograr un sitio absolutamente aséptico[21].

Algunos factores que afectan la eficacia de la desinfección de la piel incluyen el tipo y la concentración del antiséptico utilizado, la técnica de aplicación, si el método es de un solo paso o de dos pasos, el tiempo que el antiséptico está en contacto con la piel y la capacitación del personal que aplica las soluciones. Por otra parte, se ha demostrado que algunos factores como la edad, el sexo, la ocupación y la cantidad de vello en el brazo del donante; no tiene relación la carga bacteriana antes o después de la desinfección, lo que refuerza la necesidad de aplicar el mismo procedimiento de asepsia vigorosa del brazo a todos los donantes[22]

20 Alternative methods of blood donor skin disinfection. (s/f). Professional Education. Recuperado el 11 de febrero de 2023, de https://professionaleducation.blood.ca/en/transfusion/publications/alternative-methods-blood-donor-skin-disinfection

21 Ramirez-Arcos, S., & Goldman, M. (2010). Skin disinfection methods: prospective evaluation and postimplementation results. Transfusion, 50(1), 59–64. https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2009.02434.x

22 McDonald, C. P., Lowe, P., Roy, A., Robbins, S., Hartley, S., Harrison, J. F., Slopecki, A., Verlander, N., & Barbara, J. A. (2001). Evaluation of donor arm disinfection techniques: Donor arm disinfection techniques. Vox Sanguinis, 80(3), 135–141. https://doi.org/10.1046/j.1423-0410.2001.00029.x

Aunque los fabricantes de las soluciones utilizadas para desinfección de la piel previo a la flebotomía realizan pruebas para determinar la eficacia de sus productos, es recomendable evaluar su correcta aplicación en los servicios de sangre. Se deben seguir las indicaciones del fabricante para los métodos de aplicación y tiempo de acción de los productos utilizados. Actualmente, es recomendado preparar el brazo para flebotomía durante al menos 30 segundos, permitir el secado completo de las soluciones empleadas y evitar el uso de jabón verde, así como disponer de métodos alternativos para donantes con alergias a las soluciones utilizadas[23]. Adicionalmente, se han documentado casos de sepsis por contaminación derivado de mala manipulación de algodón y durante la preparación de soluciones antisépticas [24] , por lo que, es preferible optar por materiales y soluciones listas para su uso.

Si las soluciones o materiales empleados para la asepsia de los sitios de punción para flebotomía son elaborados en el servicio de sangre, se deberá contar con el soporte documental que indique el método de preparación y los parámetros de etiquetado como nombre de la solución, fecha de elaboración, fecha de caducidad, condiciones de almacenamiento, identificación del personal que preparó la solución y señalamiento de riesgo**.** En caso de emplearse frascos rellenables, deberán ser lavados y desinfectados entre cada uso**.** Se debe evitar regresar al contenedor original la soluciones sobrantes al final de la jornada [25]**.**

Las efectividades de las técnicas de desinfección han sido probadas en varios estudios y aunque no existe un consenso en cuanto a los métodos para evaluarla, diversos estudios publicados refieren el uso de placas de contacto como método de elección. Dentro de las características de esta técnica resaltan el uso de agentes neutralizantes para los remanentes de las soluciones empleadas (ya que de no estar presentes el efecto de las soluciones puede continuar sobre el medio de cultivo afectando los resultados), la relativa facilidad para la inoculación e incubación de las placas, así como la

23 Cohn, C. S. (2020). *Technical Manual (AABB)* (20a ed.). American Association of Blood Banks.

24 Dubey, A., Sonker, A., & Chaudhary, R. (2017). Snake in the grass: A case report of transfusion reactions due to contaminated donor arm disinfectant. Asian Journal of Transfusion Science, 11(1), 50. https://doi.org/10.4103/0973-6247.200775

[25] Directrices de la OMS sobre buenas prácticas de manufactura para centros de sangre. Anexo 4 del cuadragésimo quinto informe del Comité de Expertos de la OMS sobre especificaciones para preparados farmacéuticos. (2022). Pan American Health Organization.

presencia de cuadrículas en la placa que facilitan el conteo de las colonias. A continuación, se detallan algunos aspectos sobre esta técnica.

Método por placas de contacto.

El uso de placas de contacto de 65 mm de diámetro que contienen agentes para neutralización se ha descrito como un método para evaluar la eficacia del proceso de desinfección. Consiste en realizar cultivos de las placas después de ponerlas en contacto durante 30-40 segundos con la piel de la fosa anticubital del brazo de los donantes antes y después de la desinfección. Posteriormente, las placas se colocan en una incubadora a 37 °C durante 24-48 horas para contar las colonias presentes. Los resultados de la eficacia antiséptica de algunas soluciones evaluadas por este método se muestran en la tabla.

Comparación de recuentos de colonias por placa antes y después de la desinfección de la piel con tres diferentes métodos[26].

Conteo de colonias por placa	**Antes de la desinfección**			**Posterior a la desinfección**		
	Método 1	**Método 2**	**Método 3**	**Método 1**	**Método 2**	**Método 3**
0	1 (0.8%)	1 (0.8%)	2 (1.6%)	124 (97.6%)	111 (82.8%)	60 (47.2%)
1 - 10	26 (20.5%)	14 (10.5%)	19 (15.0%)	3 (2.4%)	20 (14.9%)	45 (35.4%)
11 - 100	43 (33.9)	61 (45.5%)	48 (37.8)	0 (0%)	2 (1.5%)	17 (13.4%)
>100	57 (44.9%)	58 (43.3%)	58 (45.7%)	0 (0%)	1 (0.8%)	5 (3.9%)
Total	127 (100%)	134 (100%)	127 (100%)	127 (100%)	134 (100%)	127 (100%)
Método 1: Gluconato de clorhexidina 2% + Alcohol isopropílico 70% (un solo paso) Método 2: Gluconato de clorhexidina 2% + Alcohol isopropílico 70% (dos pasos) Método 3: Yodo povidona 10% (un solo paso)						

[26] Alternative methods of blood donor skin disinfection. (s/f). Professional Education. Recuperado el 11 de febrero de 2023, de https://professionaleducation.blood.ca/en/transfusion/publications/alternative-methods-blood-donor-skin-disinfection

Métodos de cultivo tradicional[27].

Existen reportes en los que se evaluó la eficacia de las técnicas de desinfección de la piel con métodos bacteriológicos tradicionales que incluyen el muestreo con un hisopo estéril, siembras de cultivos primarios, con incubaciones de 2 hasta 7 días, seguidos de un cultivo secundario en placas incubadas por 2 días más, para finalmente realizar de manera adicional la identificación por pruebas bioquímicas[28]**.** Estas técnicas por cultivo tradicional representan una alternativa para el método de placas por contacto, sin embargo, los requerimientos para su seguimiento pueden representar una dificultad mayor para su realización en los servicios de sangre.

- ## Sangre total

El uso terapéutico de la sangre total es limitado, su utilidad primordial es para el fraccionamiento en sus diversos componentes. Los parámetros de calidad que deberán tener las unidades de sangre total, que fuesen a emplearse con fines transfusionales, se muestran en la tabla 14 de NOM-253. Considerando lo anterior, el control microbiológico de la sangre total es requerido únicamente cuando las unidades de sangre total fuesen a transfundirse sin fraccionar [29]**.** Como consideración adicional, es importante señalar que los leucocitos presentes en la sangre total pueden presentar actividad fagocítica en algunas cepas de bacterias como *K. pneumoniae, E. coli, S. epidermidis o S. aureus*. Por lo tanto, los sistemas para detección deben tener una sensibilidad y especificidad alta, acompañado de un alto volumen de muestra.

La metodología para la obtención y siembra de muestras de componentes sanguíneos para cultivo microbiológico pueden encontrarse en el apartado G. Anexo 1 de la *Guía de control de calidad microbiológico de componentes plaquetarios para incrementar la seguridad en su uso clínico en México.*

---

[27] Schmidt, M., & Seifried, E. (2016). Preventing bacterial infection in blood components. ISBT Science Series, 11(S1), 250–255. https://doi.org/10.1111/voxs.12228

[28] Rafiee, M. H., Kafiabad, S. A., Maghsudlu, M., Moradi, M., & Jalili, L. (2020). Chlorhexidine alcohol versus povidone-iodine: The comparative study of skin disinfectants at the blood transfusion centers of Iran. *Transfusion clinique et biologique : journal de la Societe francaise de transfusion sanguine*, *27*(2), 78–82. https://doi.org/10.1016/j.tracli.2020.01.005

29 Secretaria de Salud (2012). NOM-253-SSA1-2012. Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos.

- **Concentrado eritrocitario**

En comparación con los concentrados de plaquetas, la tasa de concentrados de eritrocitos (CE) contaminados con bacterias es significativamente más baja con aproximadamente 1 por cada 2 millones de CE transfundidos. Esto se atribuye principalmente a la temperatura de almacenamiento de los CE que impide el crecimiento de la mayoría de las especies bacterianas[30] .

Sin embargo, en los últimos años se han informado varios casos de sepsis después de la transfusión de CE, estos reportes incluyen a países como Alemania, Estados Unidos e Italia incluyendo diversos microorganismos como: *Staphylococcus aureus, Serratia marcescens, Yersinia enterocolitica, Pseudomonas fluorescens, Pseudomonas veronii, Enterococcus faecium, Anaplasma phagocytophilum, Pseudomonas koreensis* y *Klebsiella pneumoniae*[31] .

Existe evidencia que indica el efecto sobre el crecimiento de bacterias en CE procesados por diferentes métodos. Dentro de los factores evaluados están: el tipo de solución aditiva empleada, el uso de filtros para leucorreducción, los tipos de plásticos presentes en las bolsas de almacenamiento y el nivel de hemólisis por lo que se es importante considerar las diferencias en el crecimiento bacteriano en los CE obtenidos con diferentes métodos de fabricación .En algunos países los CE no son sometidos al control microbiológico de manera rutinaria y la prevalencia de su contaminación es obtenida mediante el seguimiento de reacciones sépticas postransfusionales[31]; sin embargo, en nuestro país la normativa vigente establece el control microbiológico como obligatorio, por lo que, hasta el momento el cumplimiento de este requisito de calidad debe ser cubierto.

La metodología para la obtención y siembra de muestras de componentes sanguíneos para cultivo microbiológico pueden encontrarse en el apartado G. Anexo 1 de la *Guía de control de calidad*

30 Prax, M., Spindler-Raffel, E., McDonald, C. P., Bearne, J., Satake, M., Kozakai, M., Rojo, J., Hanschmann, K.-M. O., Lambrecht, B., Grundmann, U., O'Flaherty, N., Klimek, A., Bekeredjian-Ding, I., Gathof, B. S., Störmer, M., Süßner, S., Renke, C., Lee, C.-K., Knabbe, C., ISBT Transfusion-Transmitted Infectious Diseases Working Party, Subgroup on Bacteria. (2021). Establishment of transfusion-relevant bacteria reference strains for red blood cells. Vox Sanguinis, 116(6), 692–701. https://doi.org/10.1111/vox.13057

31 Ramirez-Arcos, S., Kou, Y., Cayer, M.-P., De Grandmont, M.-J., Girard, M., & Cloutier, M. (2019). The impact of red blood cell manufacturing variables on bacterial growth dynamics: a pilot study. Vox Sanguinis, 114(5), 478–486. https://doi.org/10.1111/vox.12782

microbiológico de componentes plaquetarios para incrementar la seguridad en su uso clínico en México.

- **Plasmas y crioprecipitados**

Los productos acelulares, como el plasma y el crioprecipitado, se almacenan congelados y, por lo tanto, rara vez se relacionan con contaminación microbiana. En 2016, la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA, por sus siglas en inglés) documentó un posible caso fatal de transfusión séptica que involucra una unidad de plasma contaminada con *Staphylococcus* coagulasa negativo, otros reportes señalan que *Bacillus sp* también estuvo implicado en una reacción transfusional en el año 2019. Las bacterias Gram negativas *Burkolderia cepacia* y *Pseudomonas aeruginosa* han sido implicadas en reacciones transfusionales severas que involucran crioprecipitado y plasmas, que se contaminaron en los baños de agua durante el proceso de descongelación[32].

Por lo anterior, el control microbiológico para plasmas y crioprecipitados no es requerido y la prevención de contaminación microbiana estará enfocada en controlar las condiciones de descongelamiento de las unidades previo a su uso terapéutico, como señala la normativa vigente.

- **Concentrado de plaquetas**

Los preparados con plaquetas se almacenan a una temperatura de 20 a 24 °C en bolsas de plástico que tienen una mayor permeabilidad a los gases que los de los CE o el plasma y deben agitarse continuamente durante el almacenamiento para mantener el metabolismo de las plaquetas y garantizar una adecuada recuperación *in vivo*. Por estas condiciones de almacenamiento, las plaquetas son más susceptibles a la contaminación microbiana que pueden resultar en reacciones sépticas fatales. Las plaquetas son una de las principales causas de infección por transfusiones, con una tasa de aproximadamente 1 por cada 100 000 unidades de aféresis transfundidas.

Los organismos Gram positivos como *Staphylococcus epidermidis* y *Cutibacterium acnes*, que se encuentran en la piel son los contaminantes más frecuentes de las unidades de componentes

[32] Ramirez-Arcos, S., Howell, A., Bearne, J., Bhakta, V., Bower, L., Cardigan, R., Girard, M., Kou, Y., McDonald, C., Nolin, M.-È., Sawicka, D., & Sheffield, W. (2022). Challenging the 30-min rule for thawed plasma. *Vox Sanguinis*, *117*(3), 328–336. https://doi.org/10.1111/vox.13189

plaquetarios. Aunque se reconocen con menos frecuencia como contaminantes, las bacterias Gram negativas como *Serratia sp, Enterobacter sp* y *Salmonella spp,* causan infecciones más graves y a menudo fatales.

Por lo anterior, en muchos países del mundo el control microbiológico de preparados con plaquetas es obligatorio en todas las unidades obtenidas siguiendo diversas estrategias de muestreo y de cultivo a fin de minimizar el riesgo de reacciones sépticas graves. En nuestro país, el cumplimiento del control microbiológico es obligatorio siguiendo las frecuencias y cantidades establecidas en la Normativa vigente, los detalles sobre el control de calidad microbiológico pueden ser consultados en la *Guía de control de calidad microbiológico de componentes plaquetarios para incrementar la seguridad en su uso clínico en México.*

16. Capítulo 8.

- ## Control estadístico de proceso.

El control estadístico de proceso (CEP) es una herramienta que permite al banco de sangre detectar cambios en el proceso y/o procedimientos, así como monitorear el proceso íntegro, se lleva a cabo mediante la recopilación de datos durante un periodo de tiempo determinado por el propio banco de sangre, puede ser mensual, bimestral etc, de acuerdo a los resultados que se obtengan del CEP. Las técnicas estadísticas se pueden aplicar al control de calidad, o a todas las actividades tanto de procesamiento como administrativas dentro del banco de sangre, y deben analizarse y priorizarse los resultados durante la implementación de mejoras o acciones correctivas para que la obtención de componentes cumpla con los estándares requeridos para que sean utilizados en la terapia transfusional.

El uso del CEP ha resultado más beneficioso en el monitoreo de los marcadores serológicos infecciosos y en las pruebas de leucodepleción; aunque su utilidad en el control de calidad de componentes sanguíneos resulta ser muy importante, debido a que gracias al análisis estadístico de los resultados e implementación de acciones correctivas y con ello se logra la mejora del proceso de obtención, procesamiento y conservación.

La mayor importancia del CEP radica en que es uno de los pocos métodos que puede mostrar cómo se va logrando la mejora del proceso basado en los resultados obtenidos y además permite que la toma de decisiones tenga una base racional y científica (10).

- ## Implementación del control estadístico de proceso (CEP).

La implementación y seguimiento del CEP requiere entender correctamente cómo funciona, y debe existir el compromiso de su gestión por parte de la dirección, del personal encargado de calidad y de todo el personal operativo del Banco de Sangre, desde la recolección y manejo de los datos, análisis, obtención de resultados, hasta la implementación de acciones de mejora.

La implementación del CEP incluye la recolección de datos, manejo de gráficos de control, y todos los casos en donde se hayan detectado cambios en el proceso, que estén documentados, así como situaciones que hayan ocurrido repentinamente y que necesiten atención inmediata.
Todos los resultados que se obtengan derivados del CEP deben ser revisados regularmente con el objetivo de demostrar y lograr la mejora continua del proceso.

- ## Estrategia para el muestreo estadístico en el CEP.

Para que el número de muestras de control de calidad de componentes sanguíneos, su frecuencia en la recolección de los resultados, así como, el número de fallos de prueba por muestra sean considerados adecuados y aceptables, el análisis se debe basar en las siguientes consideraciones:

1. Tolerancia al fallo:
   Se debe establecer un límite permitido de fallo y no se debe exceder, con lo que se garantiza que el seguimiento que se realiza de los parámetros de calidad se encuentra bajo control y si ocurriera que este límite permitido de fallo se supera se deberán implementar acciones correctivas. Este límite se obtiene del manejo estadístico de los datos y para el control de calidad de componentes sanguíneos se deben considerar las especificaciones de los fabricantes y de los equipos que se utilicen, por lo que, cada banco de sangre debe implementar su límite de fallo de acuerdo a las condiciones de trabajo.
2. Nivel de confianza
   Se debe establecer un nivel de confianza capaz de detectar una tasa de fallo o fracaso real, y que se encuentre encima de la tasa objetivo real. Además, se debe utilizar un método válido

de análisis estadístico para determinar si la tasa de fracaso real se encuentra por encima del objetivo de la tasa de fracaso.

Tanto la tolerancia al fallo como el nivel de confianza tienen su base en análisis estadístico y se requiere conocer el número de unidades procesadas por mes para definir la cantidad de muestras que se permiten como fallo y el porcentaje permitido de este fallo. Esta parte del CEP se utiliza generalmente en el proceso de la serología infecciosa, y para el control de calidad de componentes sanguíneos; el fallo se traduce en unidades no conformes de acuerdo al cumplimiento de los parámetros de calidad.

Se debe tener en cuenta que existen parámetros de calidad los cuales, al ser analizados, se puede realizar el rescate y reingreso al inventario de las unidades, tal es el caso de, la cuenta de leucocitos o el volumen en los CE´s, que, si bien existe recuperación de unidades útiles para ser transfundidas, se debe analizar el proceso y encontrar la causa que originó este incumplimiento a los parámetros de calidad y aplicar acciones correctivas con la finalidad de mejorar el proceso.

- **Frecuencia de muestreo del control.**

Elaborar programas de control de calidad que tengan fundamentos estadísticos, resulta ser un enorme desafío debido a la complejidad en los procesos que intervienen en los bancos de sangre y servicios de transfusión, por lo que resulta importante contar con experiencia en diseño de sistemas que permitan el control de procesos, así como su análisis y si se diera el caso, el rediseño de procesos, con la finalidad de minimizar la pérdida de componentes sanguíneos por procesos ineficientes.

Existen diferentes condiciones de trabajo, así como gran diversidad de bancos de sangre, que dificultan se elabore un esquema universal de CEP´s, dentro de las diferencias se encuentran:

1. Si el banco de sangre tiene centros de colecta.
2. Personal, donde intervienen: competencias, preparación académica, experiencia laboral, etc.
3. Uso de diferentes metodologías de procesamiento, dentro la cuales se pueden encontrar: bolsas con configuración *top and top* o *top and bottom*, bolsas con filtro con las cuales se pueden recuperar plaquetas o sin recuperación de plaquetas, bolsas *top and bottom* con filtro prealmacenamiento, si realizan procedimientos de aféresis para plaquetas, plasma, o doble concentrado eritrocitario, etc. y como involucra diferentes proveedores, también se debe considerar

4. Uso de lotes diferentes de reactivos y bolsas en toda la República Mexicana.
5. El procesamiento de la ST se lleva a cabo en diferentes tiempos, procedimientos y condiciones de temperatura.
6. Las variables relacionadas al donador pueden afectar la calidad de los componentes sanguíneos aun cuando el proceso general se encuentre bajo control.
7. El hecho de que existen diversas indicaciones clínicas para realizar la transfusión, de acuerdo al paciente si se trata de un infante o es un adulto, si se requiere leucodepletado o solo leucorreducido, el volumen que se requiere. Por lo que se aplican diferentes niveles de control de calidad.
8. En algunos casos los criterios médicos pueden ser aplicados sobre los estándares de calidad, si no se pone en riesgo la vida del paciente.

Por todas estas razones es importante que cada banco de sangre implemente su propio CEP, tomando en consideración todas las variables que pueden influir en la calidad de los componentes. Se recomienda que el CEP pueda detectar por lo menos el 80% de las unidades no conformes.

La frecuencia del muestreo de unidades para el control de calidad debe implementarse con base en las siguientes consideraciones:

- Total de unidades recolectadas.
- Total de unidades procesadas.
- Si se realizan procedimientos especiales como pueden ser: leucodepleción de unidades, producción de fracciones pediátricas, etc.
- Monitorear el proceso en general, desde la obtención de ST, procesamiento y conservación de los componentes.
- Obtener la cantidad representativa de resultados de CC para que la toma de decisiones sea basada en datos reales.
- Planear, programar y calendarizar el control de calidad de componentes sanguíneos de acuerdo a la producción. Preferentemente semanal.
- La realización del control de calidad dependerá de la capacidad instalada incluyendo personal que lo trabaja.

Siguiendo estas recomendaciones se podrá implementar un CEP y que éste sea funcional para la mejora continua del proceso.

- Métodos de CEP.

Existen varios métodos que se utilizan en el control estadístico de procesos, los cuales dependen del tipo de proceso que se requiere controlar. Para el control de calidad de componentes sanguíneos el más utilizado es el uso de cartas de control.

Cartas de control.

Al trazar datos históricos y prospectivos en gráficos construidos especialmente, con frecuencia se pueden detectar cambios en el proceso en una etapa temprana, lo que permite tomar medidas correctivas, por lo que, resultan muy útiles y sencillas de implementar, así como su análisis.
Las cartas de control se utilizan para establecer los rangos de los volúmenes para los CE´s tomando en consideración el tipo de bolsa, el procesamiento y todas las variables que influyen, como se referenció en el capítulo 3 de esta guía.

Los pasos para la construcción de las gráficas de control de los diferentes procesos son los mismos:

1) Recolección de datos históricos. (volumen de componentes sanguíneos, cantidad de leucocitos residuales por componente, cantidad de plaquetas en concentrados de plaquetas, etc.) de un tiempo determinado.
2) Los datos recolectados son los de medida tales como: cuenta celular en componentes, pH, aunque también se pueden graficar los tiempos de procesamiento en caso de querer mejorar esta variable.
3) Cálculo de las variantes estadísticas:

La media ($\bar{x}$)[33]

También llamada valor medio o promedio, es el valor de tendencia central más utilizado y alrededor del cual se encuentran relacionadas la mayor parte de las variables estadísticas.

[33] MEDIA. https://laboratoriosuperior.files.wordpress.com/2015/10/tema-4-estadc3adstica-aplicada-al-laboratorio.pdf

Para **calcular la media** primero debemos sumar todos los datos y dividir el resultado entre el total del número de datos.

$$\overline{X} = \frac{\sum x}{n}$$

EJEMPLO:

DATOS	
X1=	8.4
X2=	8.8
X3=	8.1
X4=	8.5
X5=	8.6
X6=	8.0
X7=	8.9
X8=	8.3
X9=	8.1
X10=	8.7

$$\overline{x} = \frac{8.4+8.8+8.1+8.5+8.6+8.0+8.9+8.3+8.1+8.7}{10}$$

$$\overline{x} = \frac{84.4}{10} = 8.4$$

EJEMPLO:

1. Se desea saber qué tanto varían los pesos de las unidades (en gramos), por lo que se selecciona al azar cinco unidades para pesarlas.

Los pesos de las unidades son las siguientes: (490, 500, 510, 515 y 520) gramos respectivamente.

Por lo que su media es:

$$\overline{X} = \frac{490+500+510+515+520}{5} = \frac{2535}{5} = 507$$

Desviación estándar (s)[34]

La desviación estándar es una medida de extensión o variabilidad que se utiliza para calcular la variación o dispersión en la que los puntos de datos individuales difieren de la media, es decir, nos indica que tan heterogéneas son las variables en torno a la media.

La fórmula para su cálculo es:

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{N-1}}$$

S = Desviación estándar.

∑ = Suma de.

X = Cada valor.

$\bar{x}$ = Media aritmética.

Para calcular la desviación estándar:

1. Calcular la media de todos los puntos de datos.

2. Calcula la varianza de cada punto de datos restando la medida de la media del valor del punto de datos.

3. Elevar al cuadrado la varianza de cada punto de datos obtenidos en el paso 2.

4. Sumar los valores de la varianza al cuadrado obtenidos en el paso 3.

5. Dividir la suma de los valores de la varianza al cuadrado obtenidos en el paso 4, entre el número de puntos de datos del conjunto de datos menos 1.

[34] DESVIACION ESTANDAR. https://bioanalisisaldia.com/curso/estadistica-basica/desviacion-estandar/

6. Sacar la raíz cuadrada del cociente del resultado obtenido en el paso 5.

Por lo tanto, la desviación estándar es:

$$S = \sqrt{145} = 12.04$$

Varianza[35]

La varianza es una medida de dispersión. Eso significa que pretende capturar en qué medida los datos están en torno a la media. Si tenemos datos muy por encima y muy por debajo de la media, esta será menos representativa y lo veremos reflejado en una elevada varianza.

La podemos calcular como:

$$Varianza = \sum_{I=1}^{n} \frac{(x_i - \overline{x})^2}{n}$$

Donde:

- x_i es el dato número i.
- $\overline{x}$ es la media aritmética.
- n es el número de datos.

La varianza sería:

$$S^2 = \frac{(490-507)^2+(500-507)^2+(510-507)^2+(515-507)^2+(520-507)^2}{(5-1)}$$

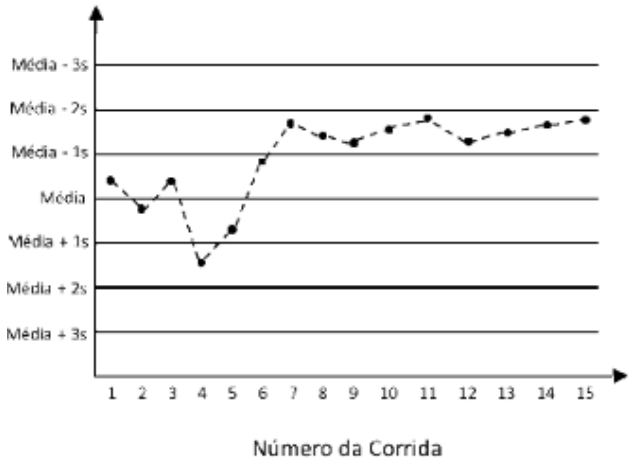
$$S^2 = \frac{(-17)^2+(-7)^2+(3)^2+(8)^2+(13)^2}{4} = \frac{289+49+9+64+169}{4} = \frac{580}{4} = 145$$

[35] VARIANZA. https://www.sage.com/es-es/blog/varianza-que-es-y-como-se-calcula/

Carta de control de Levey Jennings[36]

La carta de control de Levey Jennings es un gráfico ***xy***, en cuyo eje ***x*** se representa el resultado del material de control en un momento dado, mientras que en el eje ***y*** se representan los posibles valores de ese material, pero que además incluye por lo general de tres a siete líneas fijas que representan los valores asignados del material de control.

De manera ideal, se representa el valor medio asignado al material de control, así como el valor medio más las desviaciones estándar primera, segunda y tercera, tanto positiva como negativa (límites de decisión), quedando un gráfico como el siguiente:



Los gráficos LJ se utilizan para graficar los valores del control de calidad de forma sucesiva (corrida-a-corrida o día-a-día). Un gráfico debe ser creado para cada prueba y nivel de control.

Cuando un proceso analítico está bajo control, aproximadamente el 68% de todos los valores caen dentro de ±1 desviaciones estándar (1s). Del mismo modo, el 95.5% de todos los valores de control de calidad caen dentro de ±2 desviaciones estándar (2s). Alrededor de 4.5% de todos los datos estarán fuera de los límites de ±2s siempre que el proceso se mantenga bajo control. Aproximadamente 99.7% de todos los valores se encuentran dentro de ±3 desviaciones estándar (3s). Ya que sólo 0.3%, o

36 Westgard JO. Prácticas básicas de control de la calidad. Capacitación en Control Estadístico de la Calidad para Laboratorios Clínicos. Madison: Edición Wallace Coulter; 2013

sea, 3 de cada 1000 puntos caerán fuera de límite ±3s, se puede considerar que cualquier valor fuera de ±3s puede estar asociado con una condición de error significativa[37].

1. Una vez que se haya construido la gráfica de control, se debe ir adicionando los resultados prospectivos encontrados producto del control de calidad.

Otros datos que se pueden obtener son de atributos como por ejemplo si está o no presente el remolino en los concentrados de plaquetas, o si existe o no la presencia de agregados plaquetarios visibles. Aunque para estos datos se aplica la construcción de otro tipo de gráfico de control, que se basan en porcentaje de unidades que cumplen y las que no cumplen, y se analizan los defectos por unidad. Se obtienen la media de las unidades con defecto y las unidades sin defecto, así como también se calcula la desviación estándar y se gráfica, para detectar las mínimas variaciones e implementar acciones correctivas.

Interpretación de las cartas de control[38].

En general, si los nuevos resultados que se obtienen del control de calidad de componentes sanguíneos son graficados en las gráficas de control y se realiza el seguimiento de los patrones establecidos por los datos históricos utilizados, podremos asumir que el proceso se encuentra bajo control. Si se detectan cambios en el área del patrón como por ejemplo que los datos se ubiquen por encima o debajo de la media, o unidades fuera de los límites permitidos, previamente establecidos, justifica que se realice una investigación de las causas que provocaron esta situación e implementar acciones para corregir la desviación[39] .

Existen reglas que se han establecido como guía para que los usuarios puedan determinar cuándo se ha presentado un cambio en el proceso. Se pueden determinar cambios utilizando las siguientes reglas:

37 Westgard JO. Sistemas de gestión de la calidad para el Laboratorio Clínico. Madison: Edición Wallace Coulter; 2014

38 Gómez Lagos R, Moscoso Espinoza H, Retamales Castelletto E, Valenzuela Barros C. Guía técnica para control de calidad de mediciones cuantitativas en el laboratorio clínico. Santiago de Chile: Instituto de Salud Pública; 2015

39 Westgard, James O. [Basic QC practice. Spanish] Prácticas básicas de control de la calidad: capacitación en control de calidad estadístico para laboratorios clínicos, / James O. Westgard; with contributions from Patricia L. Barry ... [et al.]; translation by Gabriel A. Migliarino. -- 3rd ed.

1. Regla 1: Cualquier punto fuera de los límites de control.
2. Regla 2: Siete puntos consecutivos por arriba o por debajo de la línea media.
3. Regla 3: Siete puntos consecutivos todos incrementando o todos decreciendo a partir de la media.
4. Cualquier cambio inusual en el patrón de datos graficados indica cambios en el proceso.

En conclusión todos los resultados que se obtengan de la realización del control de calidad de componentes sanguíneos deben ser graficados para determinar si existen variaciones en el procesos de obtención, procesamiento y conservación que deban ser atendidos, las gráficas deben ser analizadas y son una herramienta indispensable para demostrar la mejora e implementar acciones correctivas, con el objetivo de que los componentes que sean elaborados en el banco de sangre cumplan con la calidad requerida por la normativa.

17. Capítulo 9.

- ## Gestión de riesgos en el control de calidad de sangre y componentes sanguíneos.

La Gestión de Riesgos (GR) es una disciplina que facilita y permite el apoyo sistemático y estructurado de las organizaciones de cualquier tipo para enfrentarse ante algún evento inesperado que ponga en riesgo su alcance en el mercado[40].

La Norma ISO 31000:2018, GR: Principios y Directrices, define el riesgo como el efecto de la incertidumbre en la consecución de los objetivos y la ISO Guía 73:2009, vocabulario de GR vigente, concreta el concepto, delimitando el riesgo como cualquier desviación de lo esperado, eventos o consecuencias y su probabilidad. Técnicamente, las desviaciones con potencial efecto positivo se entenderían como oportunidades y los de efecto negativo serían las amenazas[41].

40 Elejalde, O.L. (2009). La gestión del riesgo: una estrategia de administración integral. Revista Producción+Limpia, 4 (2). Recuperado el 22/04/2023 de: http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/585/1/103-112.pdf

41 Fernández García PL, et al. (2018). Gestión de Riesgo en el Servicio y Centro de Transfusión. Comunidad Valenciana. Barcelona, España.

Por lo anterior, cabe resaltar que el mismo concepto de la GR establece un vínculo con los objetivos de la institución (Servicio o Centro de Transfusión), que deberá guiar todo el proceso de GR desde que planifiquemos su identificación inicial. Por ello, incluso cuando se aborde el estudio de los riesgos asociados al control de un cambio o al análisis de una incidencia, se debe tener presente esta visión global para evaluar su potencial efecto en los objetivos de un banco de sangre[42].

El estudio y tratamiento de los riesgos contribuye a transformar el sistema de gestión de la calidad en un sistema proactivo y permite coordinar la gestión y tratamiento de incidencias en cualquier etapa de los procesos de banco de sangre, ejemplo: quejas, extracción, procesamiento, fraccionamiento y control de calidad de componentes sanguíneos (CCCS), entre otros.

Con ese fin, se ha establecido los siguientes riesgos en el CCCS, identificando, analizando, evaluando y controlando los riesgos que amenazan, clasificando el impacto, la probabilidad de ocurrencia, el control del riesgo y la descripción del control que permita que el personal de los servicios de sangre aborde de manera eficiente cualquier eventualidad que se presente.

IMPACTO DEL RIESGO. Criterios para valorar el grado de Impacto. La asignación se determinará con un valor del 1 a 10, en función de los efectos, considerando las siguientes escalas[43]

42 Calderón Huertas Y., Mendigaña Redondo AP. y Trujillo Montaño KN (2019). Tesis: Diseño de un Programa de Gestión del Riesgo para Bancos de sangre colombianos. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca Facultad de Ciencias de la salud, Bogotá Colombia.

43 ASANA ENTERPRISE (2022). Matriz de Riesgos; como evaluar los riesgos. Recuperado el 23/04/2023 de: https://asana.com/es/resources/risk-matrix-template

Tabla . Evaluación del riesgo.

Escala de Valor	Impacto	Descripción
10-9	Catastrófico / Alto impacto	Influye directamente en el cumplimiento de la misión, visión, metas y objetivos de la Institución y puede implicar impacto patrimonial, incumplimientos normativos, problemas operativos o impacto ambiental y deterioro/aumento de la imagen, dejando además sin funcionar totalmente o por un período importante de tiempo, afectando los programas, proyectos, procesos o servicios sustantivos de la Institución.
8-7	Grave / Importante	Dañaría/ayudaría significativamente el patrimonio, incumplimientos normativos, problemas operativos o de impacto ambiental y deterioro/aumento de imagen o logro de las metas y objetivos institucionales. Además, se requiere una cantidad importante de tiempo para investigar y corregir consecuencias.
6-5	Moderado	Causaría, ya sea una pérdida/aumento importante en el patrimonio o un deterioro/aumento significativo en la imagen institucional.
4-3	Bajo	Causa un daño/apoyo en el patrimonio o imagen institucional, que se puede percibir en el corto tiempo y no afecta el cumplimiento de las metas y objetivos institucionales.

Escala de Valor	Impacto	Descripción
2-1	Menor	Suceso que puede ocasionar pequeños o nulos efectos en la Institución.

PROBABILIDAD DEL RIESGO. Criterios para valorar la probabilidad de ocurrencia antes de la evaluación de controles (valoración inicial). La asignación se determinará con un valor del 1 al 10, en función de los factores del suceso, considerando las siguientes escalas de valor:

Tabla Probabilidad del riesgo.

Escala de Valor	Probabilidad de Ocurrencia	Descripción
10-9	Recurrente	Probabilidad de ocurrencia muy alta. Se tiene la seguridad de que el suceso se materialice un 90-100%
8-7	Muy probable	Probabilidad de ocurrencia alta. Se tiene la seguridad de que el suceso se materialice un 75% a 89%
6-5	Probable	Probabilidad de ocurrencia media. Está entre 51% a 74% de seguridad que se materialice
4-3	Inusual	Probabilidad de ocurrencia media. Esta entre 25% a 50% de seguridad que se materialice

Escala de Valor	Probabilidad de Ocurrencia	Descripción
2-1	Remota	Probabilidad de ocurrencia baja. Está entre 1% a 24% de seguridad que se materialice

El banco de sangre debe[44]:

- Evaluar el impacto de los procesos de trabajo.
- Evaluar el impacto de las fallas potenciales sobre los resultados del examen y su efecto en el producto sanguíneo.
- Modificar los procesos para reducir o eliminar los riesgos identificados.
- Documentar las decisiones y las acciones tomadas.

En la tabla siguiente, se describen los riesgos más comunes e importantes que pueden tomarse en cuenta, es solo una guía, cada servicio de sangre debe describir y gestionar los riesgos que identifique en su establecimiento.

Tabla de riesgos más comunes e importantes.

Riesgo	Clasificación		Control	Descripción del control
	Impacto	Probabilidad de ocurrencia		
Falta de motivación e iniciativa	Grave	Probable	Incentivar	Estimular al personal mediante acciones que aumenten su autoestima tales como congresos, talleres, becas, días de

[44] Espinosa Pulido M. (2020). Gestión de riesgos en el laboratorio clínico y banco de sangre. Entidad Mexicana de Acreditación EMA. Recuperado el 28/04/2023 de: https://www.ema.org.mx/descargas_evento_dma/banco_sangre/GestionDelRiesgoEnLaboratorioClinico.pdf

Riesgo	Clasificación		Control	Descripción del control
	Impacto	Probabilidad de ocurrencia		
				descanso adicional, ejercicios o platicas motivacionales
Falta de supervisión y/o evaluación del personal	Grave	Muy probable	Evaluar	Realizar auditorías internas continuas y evaluaciones de desempeño del personal de CC
Inexperiencia del profesional	Moderado	Probable	Capacitar	Capacitar al personal responsable en guías técnicas estandarizadas, diluciones, pipeteo y manejo de estadística básica para el CCCS
Responsabilidades no asignadas o mal asignadas	Moderado	Muy probable	Conocer	Conocer el perfil y descripción del puesto de responsabilidad
Ausencia de un protocolo o instructivo de trabajo validado o verificado	Moderado	Probable	Establecer	Adoptar o elaborar un documento o guía estandarizada validada para implementar el proceso
Linealidad limitada de los equipos automatizados	Moderado	Probable	Gestionar	Solicitar a proveedores el requerimiento de equipos con linealidad adecuada a los parámetros medidos en el área de control de calidad

Riesgo	Clasificación		Control	Descripción del control
	Impacto	Probabilidad de ocurrencia		
Falta de equipos automatizados	Bajo	Inusual	Asumir	Asumir que los equipos automatizados son necesarios para la lectura o medición de células y analitos

18. Capítulo 10.

- **Subrogación de pruebas de control de calidad en control de calidad.**

Los servicios de sangre deben garantizar que los componentes sanguíneos procesados en sus instalaciones tienen la calidad necesaria para su uso previsto, que cumplen con los parámetros ordinarios de calidad y no ponen en riesgo a los receptores; con la finalidad de lograr ese objetivo, debe existir un Sistema de Gestión de la Calidad bien implantado en la institución. El control de calidad se ocupa de las especificaciones, obtención y análisis de muestras, así como de los procedimientos de organización, documentación y aprobación de productos sanguíneos destinados a garantizar que se llevan a cabo las pruebas necesarias y pertinentes y que ningún producto es egresado para su uso terapéutico hasta que su calidad se haya considerado satisfactoria.

Los servicios subrogados son aquellos que proporciona un establecimiento por medio de convenios celebrados con instituciones públicas o privadas o con personas físicas o morales para complementar la prestación de la atención requerida, es decir, todos aquellos servicios de sangre que no cuenten con la infraestructura necesaria para realizar el control de calidad de la sangre y sus componentes dentro de la unidad, deberán garantizar la realización de dichas determinaciones a través de un servicio subrogado (proveedor externo). En tal caso los servicios de sangre deben asegurar que el proveedor cumpla con los requerimientos de calidad esperados para realizar las determinaciones que se le encomienden, por lo que debe efectuarse una evaluación y calificación de la idoneidad y competencia del proveedor del servicio subrogado para desempeñar las pruebas requeridas, se recomienda solicitar copia simple de los siguientes documentos:

a. Licencia sanitaria vigente y/o Aviso de Funcionamiento del laboratorio donde se llevarán a cabo las pruebas.
b. Autorización de Responsable Sanitario del laboratorio donde se procesarán las pruebas.
c. Cédula Profesional y Título del profesionista que llevará a cabo las pruebas requeridas.
d. Programa de control de fauna nociva.
e. Acreditación o certificación del Sistema de Gestión de Calidad.
f. Constancia de inscripción vigente al programa de control de calidad externo, o bien constancia de certificación o acreditación por parte de algún organismo rector.
g. Contrato de RPBI vigente.
h. Equipo y reactivos con los cuales se realizarán las pruebas.

La subrogación de servicios, deberá documentarse mediante un convenio o contrato donde se especifiquen las responsabilidades de cada parte, las disposiciones técnicas que permitan el cumplimiento del servicio garantizando que se realiza de conformidad con la normativa vigente, además deberá definirse el flujo de información, el manejo y archivo de los documentos y las muestras, manteniendo la confidencialidad en todo momento, el proveedor del servicio subrogado debe asumir la responsabilidad de la calidad del servicio proporcionado, los resultados de las pruebas de seguimiento de la calidad deben estar sujetos a examen periódico y análisis de tendencias por parte del servicio de sangre, en caso de que los resultados apunten a que el proceso no está cumpliendo con los parámetros y especificaciones, deben adoptarse medidas correctivas.

Las pruebas que se podrán enviar a un servicio de subrogación son:

a) Control bacteriológico.
b) Determinación de Factor VIIIc, Factor de Von Willebrand y Fibrinógeno.

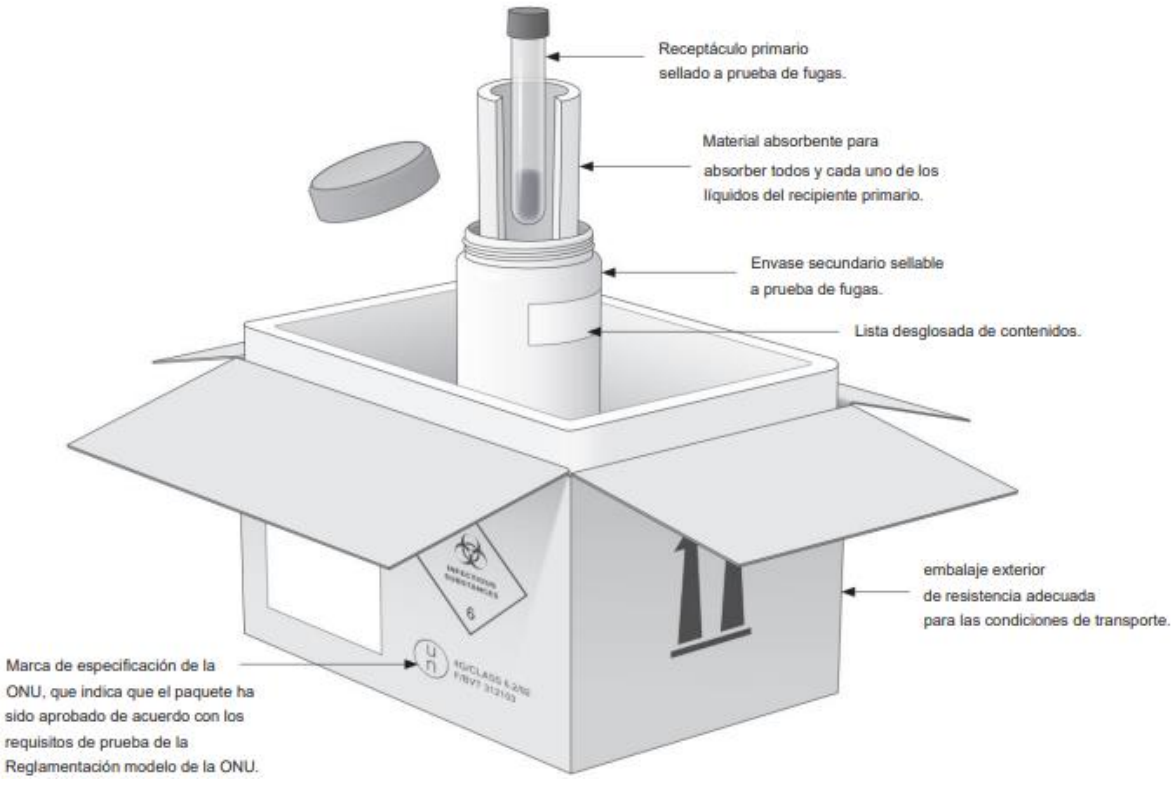
La toma de muestras y la frecuencia de envío para estas determinaciones deberá ajustarse en todo momento a lo descrito en los capítulos 4 y 7 de esta guía, considerando las técnicas empleadas por el proveedor del servicio.

El método de transporte de las muestras deberá estar validado y asegurar que se mantendrá la temperatura óptima en todo momento. La sangre y sus componentes con fines terapéuticos no se ajustan a la definición de sustancias infecciosas, por lo que el envío y transporte de las muestras derivadas de este tejido para control de calidad deberán ajustarse a lo establecido en la

Reglamentación Modelo de las Naciones Unidas y la OMS, para su transportación por cualquier vía, utilizando el sistema básico de triple embalaje que comprende los siguientes elementos:

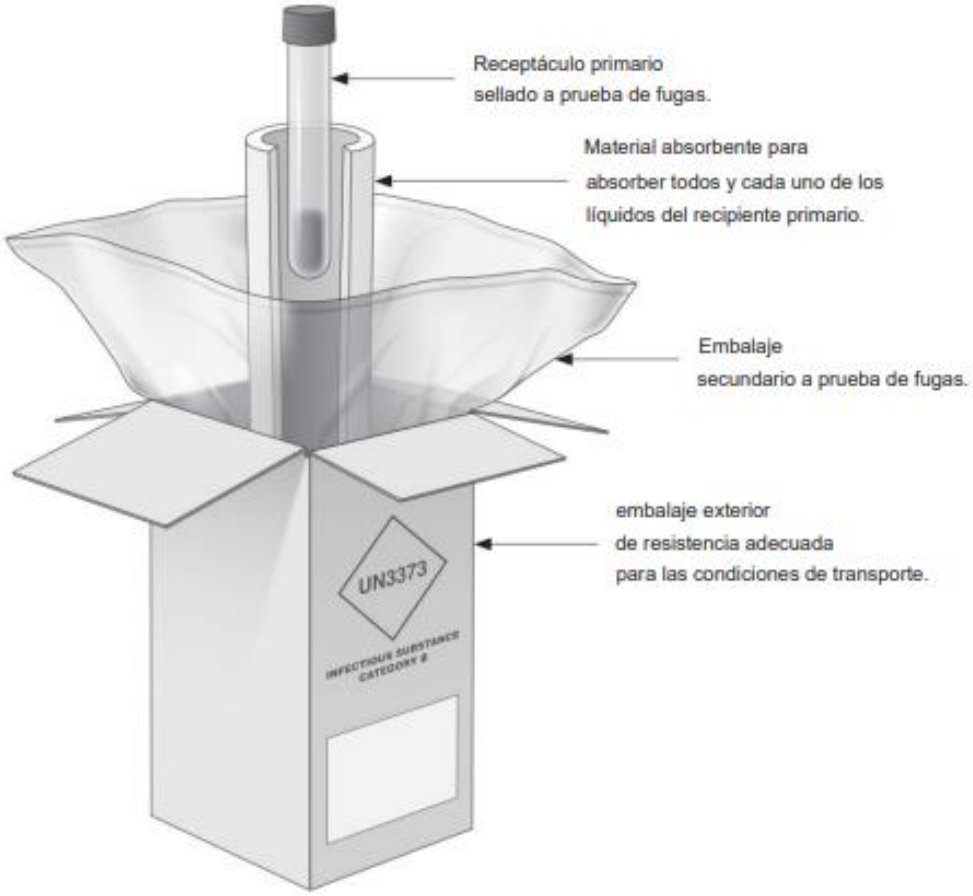
1. Recipiente primario, contiene la muestra que se analizará, debe ser hermético e impermeable, y debe estar identificado adecuadamente con el código numérico o alfanumérico de la unidad, además debe estar envuelto en material absorbente, en caso de presentar fuga.
2. Recipiente secundario, cubre y protege al recipiente primario y al material absorbente, deberá ser hermético e impermeable, puede contener varios recipientes primarios siempre y cuando sean de la misma clase.
3. Recipiente exterior, debe ser de material altamente resistente para proteger al recipiente secundario de daños físicos durante el transporte.

Ejemplo de materiales de embalaje triple adecuados para sustancias infecciosas de categoría A.
Ilustración creada para la 4ª edición del Manual de Bioseguridad en el Laboratorio de la OMS.



Ejemplo de materiales de embalaje triple adecuados para sustancias infecciosas de categoría B.

Ilustración creada para la 4ª edición del Manual de Bioseguridad en el Laboratorio de la OMS.



Ilustraciones tomadas de: *WHO. Laboratory biosafety manual, fourth edition. (Laboratory biosafety manual, fourth edition and associated monographs). ISBN 978-92-4-001131-1 (electronic version). Disponible en https://www.who.int/publications/i/item/9789240011311*

19. Anexo.

- ## Centrifugación de muestras.

La centrifugación es una técnica de separación que se utiliza para aislar o concentrar partículas suspendidas en un líquido aprovechando la diferente velocidad de desplazamiento según su forma, tamaño o peso al ser sometidas a una fuerza centrífuga. La fuerza centrífuga es la que se ejerce sobre un cuerpo cuando éste gira alrededor de un eje. Esta fuerza, cuya magnitud es directamente proporcional a la masa del cuerpo, el radio de giro y la velocidad de giro (o angular), es perpendicular al eje y tiende a alejar el cuerpo del mismo. La fuerza centrífuga puede acelerar el proceso de sedimentación de partículas que tienen tendencia a hacerlo espontáneamente (densidad superior a la del líquido), o en aquellas que tienden a flotar (densidad inferior a la del líquido). En este sentido, la tecnología actual permite llegar a fuerzas de centenares de miles de veces la fuerza de la gravedad ('1g' es aproximadamente la fuerza centrífuga generada por un rotor de 25 cm de radio girando a una revolución por segundo)[45]

La centrifugación de la muestra es una etapa fundamental para la obtención de muestras con calidad.

Las velocidades de centrifugación serán determinadas conforme a la fuerza centrífuga relativa (FCR) que establezca la técnica y al tipo de centrífuga utilizada en el proceso. La FCR es expresada en gravedades, sin embargo, en el laboratorio, las técnicas expresan para el proceso de centrifugación velocidades en rpm (revoluciones por minuto).

Es muy importante aclara que las rpm por lo tanto, son limitadas y dependientes del tipo de tubo, modelo de centrífuga, rotor y cabezal específico. La FCR está relacionada con el ajuste de la velocidad de la centrífuga (rpm) mediante la siguiente ecuación[46]:

[45] Universidad de Barcelona. Operaciones Básicas en el Laboratorio de Química. Disponible en: https://www.ub.edu/oblq/oblq%20castellano/index1.html# Consultado el 21 de junio de 2023.
46 H18-A4 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Test; Approved Guideline- Fourth Edition, Vol. 30 No. 10.

$$rpm = \sqrt{\frac{RCF \times 105}{1.2 \times r}}$$

Donde “r” se expresa en cm y es la distancia radial desde el centro del cabezal de la centrífuga hasta el fondo del tubo

Por lo que es necesario calcular empleando la fórmula anterior y a partir del tipo y radio de la centrifuga empleada, los rpm a las que se deberán centrifugar las muestras. Es decir, por cada modelo de centrifuga y por cada especificación en gravedades (g), se deberá realizar el cálculo. Para ello se pueden consultar diversas páginas web, que se encuentran disponibles en las que solo se sustituye el radio de la centrifuga a emplear y la especificación en gravedades (g), que indique la técnica para las muestras.

La centrifugación se realiza comúnmente entre 20 y 22 °C, especialmente si durante la centrifugación incrementa la temperatura ocasionada por el aumento en el número de rpm requeridas para la separación de la muestra.