

|  |   |                                       |
|--|---|---------------------------------------|
|  | <b>INSTRUCCIÓN DE TRABAJO VERIFICACION DE<br/>FUNCIONAMIENTO DE REACTIVOS</b> | Código: IT-IS-BS-16                   |
|  |   | Página 1 de 16                        |
|  | <b>DIVISIÓN DE SERVICIOS AUXILIARES DE<br/>DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</b>      | Fecha de Revisión:<br>Septiembre 2019 |
|  |   | Versión vigente: 01                   |

## INDICE

Pág.

|                                |    |
|--------------------------------|----|
| 1.0 ALCANCE.....               | 01 |
| 2.0 DOCUMENTOS APLICABLES..... | 01 |
| 3.0 DEFINICIONES.....          | 02 |
| 4.0 MATERIAL Y EQUIPO .....    | 03 |
| 5.0 DESARROLLO.....            | 04 |
| 6.0 ANEXOS.....                | 12 |
| 8.0 CONTROL DE CAMBIOS.....    | 16 |

### 1. Alcance:

Aplica al proceso interno de inspección y verificación del cumplimiento de características requeridas para el correcto funcionamiento de los reactivos acorde a la NOM-253-SSA1-2012, Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos.

### 2. Documentos Aplicables:

FT-IS-BS-14 Prueba de avidéz de antisueros

FT-IS-BS-15 Verificación del funcionamiento de antiglobulina humana (para la prueba de Coombs).

FT-IS-BS-60 Titulación de antisueros hemoclasificadores para determinar grupos sanguíneos ABO y Rh (D).

FT-IS-BS-73 Formato de verificación de funcionamiento de reactivos del área de Inmunohematología.

IT-IS-BS-17 Instrucción de trabajo control de calidad para material de vidrio.

IT-IS-BS-29 Instrucción de Trabajo Hemoclasificación ABO Rh (D)


N/A NOM-253-SSA1-2012, Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos.

N/A Proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-222-SSA1-2002, Que establece las especificaciones sanitarias de los reactivos: hemoclasificadores para determinar grupos de sistema ABO, Anti Rh para identificar el antígeno D y antiglobulina humana para la prueba de Coombs.

N/A Bitácora de Titulación de Antiglobulina Humana (Suero de Coombs).

N/A Control de calidad tarjetas de gel ABO y Coombs (Área de Hemoclasificación).

|                     | Elaboró   | Revisó  | Autorizó   |
|---------------------|---|---|--|
| COPIA NO CONTROLADA | QFB. Leticia Nogal Valadez<br>Químico del Banco de Sangre | Dra. Esperanza Elizabeth Zuno Reyes<br>Jefa de Bancos de Sangre | Dr. Santiago López Venegas<br>Jefe De La División De Servicio Auxiliares De Diagnóstico, Tratamiento |

|   |   |                                       |
|---|---|---------------------------------------|
|  | <b>INSTRUCCIÓN DE TRABAJO VERIFICACIÓN DE<br/>FUNCIONAMIENTO DE REACTIVOS</b> | Código: IT-IS-BS-16                   |
|   |   | Página 2 de 16                        |
|   | <b>DIVISION SERVICIOS AUXILIARES DE<br/>DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</b>         | Fecha de Revisión:<br>Septiembre 2019 |
|   |   | Versión Vigente: 01                   |

### 3. Definiciones:

**Aglutinación:** Reacción caracterizada por agrupación de células o partículas resultante de la interacción entre antígenos y anticuerpos.

**Anticuerpo:** Inmunoglobulina resultante de una respuesta inmune a un antígeno propio o ajeno al individuo.

**Antígeno:** Sustancia capaz de estimular una respuesta inmune con la formación de anticuerpos.

**Aspecto Físico:** Características físicas perceptibles de un objeto.

**Avidez:** Al tiempo que tarda en reaccionar un anticuerpo con su antígeno correspondiente.

**Eritrocitos sensibilizados:** Glóbulos rojos que tienen adheridos a un antígeno de la membrana eritrocitaria, anticuerpos, complemento o ambos.

**Especificidad:** Capacidad de una prueba de laboratorio para identificar todos los negativos o no reactivos correctamente.

**Fecha de caducidad o límite de vigencia:** El último día en que las unidades de sangre, componentes sanguíneos, los materiales, las sustancias y los reactivos se consideran viables o útiles.


**Hematías A1:** Eritrocitos de grupo conocido A1

**Hematías B:** Eritrocitos de grupo conocido B

**Hematías I y II:** Eritrocitos reactivos para el rastreo de anticuerpos irregulares de importancia clínica.

**Lote:** Cantidad específica de cualquier materia prima o insumo, que haya sido elaborada en un ciclo de producción, bajo condiciones equivalentes de operación y durante un periodo determinado

**Prueba de antiglobulina humana (prueba de Coombs):** ensayo de aglutinación en el que se emplean anticuerpos contra la gammaglobulina humana, que permite demostrar la presencia o ausencia de anticuerpos adheridos a un antígeno de la membrana del eritrocito.

|   |   |  |
|---|---|--|
|  | <b>INSTRUCCIÓN DE TRABAJO VERIFICACIÓN DE<br/>FUNCIONAMIENTO DE REACTIVOS</b> | Código: IT-IS-BS-16  |
|   | <b>DIVISION SERVICIOS AUXILIARES DE<br/>DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</b>         | Página 3 de 16<br>Fecha de Revisión:<br>Septiembre 2019<br>Versión Vigente: 01 |

**Reactivo de antiglobulina humana (Coombs):** Producto empleado para la detección de globulinas humanas adheridas a los eritrocitos. El poli-específico, también detecta actividad de complemento humano (C3d y C3b).

**Reactivos hemoclasificadores:** Productos registrados y autorizados que se utilizan para la tipificación de la sangre por medio de la identificación de antígenos de los eritrocitos.


**Título:** Es la mayor dilución de una muestra de suero o plasma en la que se presenta una reacción considerada como reactiva o positiva.

**Validación:** Es una parte del aseguramiento del sistema de calidad que evalúa anticipadamente los pasos involucrados en los procedimientos operativos o de la preparación del producto para asegurar la calidad, efectividad y confiabilidad.

**Verificación:** Constatación ocular o comprobación mediante muestreo, medición, pruebas de laboratorio, o examen de documentos que se realizan para evaluar la conformidad en un momento determinado.


#### 4.0 Material y Equipo:

- \* Centrífuga para tubo.
- \* Gasas.
- \* Guantes.
- \* Solución salina (9 g NaCl/L)
- \* Centrífuga para pruebas serológicas
- \* Tubos de ensayo 12X75 mm
- \* Pipetas de Pasteur
- \* Reactivos hemoclasificadores anti-A, anti-B, anti-AB, anti-A1, lectina A1, lectina-H y anti-D
- \* Eritrocitos lavados de grupo conocidos A1, A2, B, O. R1r y rr.
- \* Hematíes I y II
- \* Viales de control de calidad

|   |   |                                       |
|---|---|---------------------------------------|
|  | <b>INSTRUCCIÓN DE TRABAJO VERIFICACIÓN DE<br/>FUNCIONAMIENTO DE REACTIVOS</b> | Código: IT-IS-BS-16                   |
|   |   | Página 4 de 16                        |
|   | <b>DIVISION SERVICIOS AUXILIARES DE<br/>DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</b>         | Fecha de Revisión:<br>Septiembre 2019 |
|   |   | Versión Vigente: 01                   |

## 5. Desarrollo:

| No.  | Responsables   | Descripción de la Actividad   |          |          |           |                        |           |  |
|--|--|---|----------|----------|-----------|------------------------|-----------|--|
| <b>5.1 Verificación del aspecto físico</b>                       |  |   |          |          |           |                        |           |  |
| 5.1.1  | Químico del área de Inmuno-Hematología   | <p>Verifica aspecto físico y límite de vigencia de los reactivos y células.</p> <p>Ver N/A Proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-222-SSA1-2002, Que establece las especificaciones sanitarias de los reactivos: hemoclasificadores para determinar grupos de sistema ABO, Anti Rh para identificar el antígeno D y antiglobulina humana para la prueba de Coombs.</p>   |          |          |           |                        |           |  |
| 5.1.2  | Químico del área de Inmuno-Hematología   | <p>Criterios para su valoración y aceptación:</p> <p><b>PARA REACTIVOS:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Ausencia de turbidez, precipitados, partículas, formación de geles en el sobrenadante o cualquier otra anomalía. Cada día de uso.</li> </ul> <p><b>PARA CELULAS:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Ausencia de hemólisis, turbidez, precipitados, partículas, formación de geles en el sobrenadante o cualquier otra anomalía. Para las células A1, A2, B y O cada día de uso, para Hematíes I y II cada lote.</li> </ul> |          |          |           |                        |           |  |
| 5.1.3  | Químico del área de Inmuno-Hematología   | <table border="1" style="width: 100%;"> <thead> <tr> <th style="width: 30%;">¿Cumple?</th> <th>Entonces</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;"><b>SI</b></td> <td><b>Continua en 5.2</b></td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;"><b>NO</b></td> <td>Notifica al Médico Coordinado/Jefe de Servicio quien solicita reposición de reactivos o células al proveedor del Sistema Integral.</td> </tr> </tbody> </table>   | ¿Cumple? | Entonces | <b>SI</b> | <b>Continua en 5.2</b> | <b>NO</b> | Notifica al Médico Coordinado/Jefe de Servicio quien solicita reposición de reactivos o células al proveedor del Sistema Integral. |
| ¿Cumple?   | Entonces   |   |          |          |           |                        |           |  |
| <b>SI</b>  | <b>Continua en 5.2</b>   |   |          |          |           |                        |           |  |
| <b>NO</b>  | Notifica al Médico Coordinado/Jefe de Servicio quien solicita reposición de reactivos o células al proveedor del Sistema Integral. |   |          |          |           |                        |           |  |
| <b>5.2 Realización de la prueba de Reactividad/Especificidad</b> |  |   |          |          |           |                        |           |  |
| 5.2.1  | Químico de Control de calidad  | <p>Procedimiento de lavados de eritrocitos:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Colocar en un tubo de ensayo de 12 mm x 75 mm los eritrocitos y adicionar de 3 mL a 4 mL de solución salina (9 g NaCl/L). Centrifugar 3 min a 3 400 rpm (900 FCR a 1 000 FCR).</li> </ul>  |          |          |           |                        |           |  |

|   |   |  |
|---|---|--|
|  | <b>INSTRUCCIÓN DE TRABAJO VERIFICACIÓN DE<br/>FUNCIONAMIENTO DE REACTIVOS</b> | Código: IT-IS-BS-16  |
|   | <b>DIVISION SERVICIOS AUXILIARES DE<br/>DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</b>         | Página 5 de 16<br>Fecha de Revisión:<br>Septiembre 2019<br>Versión Vigente: 01 |

|   |   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Transcurrido dicho tiempo decantar el sobrenadante.</li> <li>• Repetir este procedimiento en dos ocasiones más.</li> <li>• Después de la tercera centrifugación, con ayuda de una pipeta Pasteur eliminar todo el sobrenadante</li> </ul>  |          |          |           |                                   |           |                                       |
|---|---|---|----------|----------|-----------|-----------------------------------|-----------|---------------------------------------|
| 5.2.2   | <b>Químico de Control de calidad</b>          | Preparación de una suspensión al 3% de eritrocitos lavados: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Colocar 9,7 mL de solución salina (9 g NaCl/L) más 0,3 mL de paquete eritrocitario y mezclar perfectamente.</li> <li>• Preparar una suspensión al 3% en solución salina (9 g NaCl/L) de eritrocitos de grupo A1, A2, B y O.</li> <li>• De acuerdo al reactivo a evaluar, rotular una serie de tubos, identificando cada tubo con el grupo de las células de prueba.</li> </ul> |          |          |           |                                   |           |                                       |
| 5.2.4   | <b>Químico del área de Inmuno-Hematología</b> | INTERPRETACION: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Lee buscando aglutinación, según la siguiente tabla del anexo 7 Correspondencia entre grados de aglutinación y puntaje.</li> <li>• Los reactivos deben contener únicamente las aglutininas especificadas en la etiqueta.</li> </ul>  |          |          |           |                                   |           |                                       |
| <b>5.3 Control de calidad en equipo automatizado y Registro de resultados</b> |   |   |          |          |           |                                   |           |                                       |
| 5.3.1   | <b>Químico del área de Inmuno-Hematología</b> | Realiza control de calidad en el equipo automatizado, según el siguiente procedimiento: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Atempera viales, células y diluyente.</li> <li>• Centrifuga 5 minutos los viales a 3500 RPM.</li> <li>• Ingresa al equipo y selecciona pruebas a realizar en la configuración del equipo.</li> <li>• Procesa los viales</li> <li>• Lee y coteja los resultados con el inserto.</li> </ul>  |          |          |           |                                   |           |                                       |
| 5.3.  | <b>Químico del área de Inmuno-Hematología</b> | Registra en el FT-IS-BS-73 Formato de verificación de funcionamiento de reactivos del área de Inmuno-Hematología las lecturas del control de calidad automatizado y de las pruebas de Reactividad/Especificidad obtenidas según grado de aglutinación, ver guía de llenado.   |          |          |           |                                   |           |                                       |
| 5.3.2   | <b>Químico del área de Inmuno-Hematología</b> | <table border="1" style="width: 100%;"> <thead> <tr> <th style="width: 30%;">¿Cumple?</th> <th>Entonces</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;"><b>SI</b></td> <td>Se valida y se libera para su uso</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;"><b>NO</b></td> <td>Notifica al Médico Coordinado/Jefe de</td> </tr> </tbody> </table>   | ¿Cumple? | Entonces | <b>SI</b> | Se valida y se libera para su uso | <b>NO</b> | Notifica al Médico Coordinado/Jefe de |
| ¿Cumple?  | Entonces                                      |   |          |          |           |                                   |           |                                       |
| <b>SI</b>   | Se valida y se libera para su uso             |   |          |          |           |                                   |           |                                       |
| <b>NO</b>   | Notifica al Médico Coordinado/Jefe de         |   |          |          |           |                                   |           |                                       |



# INSTRUCCIÓN DE TRABAJO VERIFICACIÓN DE FUNCIONAMIENTO DE REACTIVOS

Código: IT-IS-BS-16

Página 6 de 16

Fecha de Revisión:  
Septiembre 2019


DIVISION SERVICIOS AUXILIARES DE  
DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO

Versión Vigente: 01

Servicio quien solicita reposición de reactivos o células al proveedor del Sistema Integral.

## 5.4 Realización de avidez a reactivos hemoclasificadores del sistema ABO

|              |                                      |  |
|--------------|--------------------------------------|--|
| <b>5.4.1</b> | <b>Químico de Control de Calidad</b> | <b>Avidez.</b> La avidez de los reactivos hemoclasificadores para determinar grupos sanguíneos del Sistema ABO, en la prueba en placa y a temperatura ambiente, debe ser tal, que la aglutinación de los eritrocitos del tipo correspondiente se inicie en el tiempo máximo que se especifica para cada subgrupo, contados a partir del momento en que se ponen en contacto suero y eritrocitos y el tamaño de los cúmulos aglutinados no debe ser menor de 1 mm de diámetro.  |
| <b>5.4.2</b> | <b>Químico de Control de Calidad</b> | <b>Procedimiento de lavado de eritrocitos.</b> Pasa a 5.2.1. Preparación de una suspensión al 10% de eritrocitos lavados. <ul style="list-style-type: none"><li>• Colocar 4.5 ml de solución salina (9 g NaCl/L) más 0.5 ml de paquete eritrocitario y mezclar perfectamente.</li></ul>  |
| <b>5.4.3</b> | <b>Químico de Control de Calidad</b> | Procedimiento: <ul style="list-style-type: none"><li>• Ver anexo 6. Técnica de Avidez para sueros hemoclasificadores.</li><li>• Colocar una gota de células específicas para el reactivo a evaluar en una placa de vidrio y junto a ella una gota del mismo volumen del reactivo sin que se toquen.</li><li>• Mezclar las células y el reactivo con un aplicador de madera (formando un círculo de 25 mm de diámetro) al mismo tiempo poner en marcha un cronómetro</li><li>• La placa de vidrio no deberá estar en contacto con superficies que tengan temperatura superior a 30°C. Enseguida dar a la placa un movimiento rotatorio con las manos y estar atento al momento en que inicie la aglutinación (el tamaño de los cúmulos debe tener un diámetro de 1 mm para ser aceptables), en ese momento parar el cronómetro.</li><li>• <a href="#">Registra el tiempo en FT-IS-BS-14 Formato de prueba de avidez de antisueros</a></li></ul> |


|   |   |  |
|---|---|--|
|  | <b>INSTRUCCIÓN DE TRABAJO VERIFICACIÓN DE<br/>FUNCIONAMIENTO DE REACTIVOS</b> | Código: IT-IS-BS-16  |
|   | <b>DIVISION SERVICIOS AUXILIARES DE<br/>DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</b>         | Fecha de Revisión:<br>Septiembre 2019<br><br>Versión Vigente: 01 |

### 5.5 Realización de avidez a reactivos ANTI-Rh para identificar el antígeno D.

|              |                                      |  |
|--------------|--------------------------------------|--|
| <b>5.5.1</b> | <b>Químico de Control de Calidad</b> | <p>Ver anexo 6. Técnica de Avidez para sueros hemoclasificadores.</p> <p>Avidez. La aglutinación macroscópica deberá iniciarse máximo a los 30 s y al final de los 2 min deberá haber algunos aglutinados (cúmulos) de aproximadamente 1 mm de diámetro. Este requisito se aplica a los reactivos de la prueba en placa y a los del método modificado en tubo.</p>   |
| <b>5.5.2</b> | <b>Químico de Control de Calidad</b> | <p>Procedimiento de lavado de eritrocitos. Pasa a 5.2.1.</p> <p>Prepare una suspensión al 40% o 45% de eritrocitos en albumina bovina al 22%, suero o plasmas de grupo compatible.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Preparar una suspensión al 40% o 45% de eritrocitos en albúmina bovina al 22%, suero o plasmas de grupo compatible.</li> <li>• Coloque dos gotas de la suspensión de eritrocitos en un portaobjeto previamente calentado a una temperatura de 37°C a 45°C y sobre el mismo portaobjeto coloque una cantidad de reactivo igual a la mitad del volumen de la suspensión de eritrocitos.</li> <li>• Mézclense con un aplicador sobre un área aproximada de 20 mm x 40 mm y tómese el tiempo con un cronómetro en el momento en que empieza la aglutinación.</li> <li>• Muévase el portaobjeto continuamente durante el periodo de observación. Registra en FT-IS-BS-14 Prueba de avidez de antisueros, el tamaño de los cúmulos (aglutinación) al final de los 2 o 3 min y deben corresponder de 3 a 4+ con el suero sin diluir.</li> </ul> |

### 5.6 Realización de titulación de reactivos hemoclasificadores del sistema ABO


|              |                                      |   |
|--------------|--------------------------------------|---|
| <b>5.6.1</b> | <b>Químico de Control de Calidad</b> | <p>Procedimiento de titulación:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ver anexo 5. Técnica de titulación para sueros hemoclasificadores.</li> <li>• Hacer diluciones seriadas usando como factor de dilución 2 hasta la dilución 1:512 de los reactivos, en caso de ser necesario continuar con las diluciones.</li> </ul> |
|--------------|--------------------------------------|---|

|   |   |                                       |
|---|---|---------------------------------------|
|  | <b>INSTRUCCIÓN DE TRABAJO VERIFICACIÓN DE<br/>FUNCIONAMIENTO DE REACTIVOS</b> | Código: IT-IS-BS-16                   |
|   |   | Página 8 de 16                        |
| <b>DIVISION SERVICIOS AUXILIARES DE<br/>DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</b>             |   | Fecha de Revisión:<br>Septiembre 2019 |
|   |   | Versión Vigente: 01                   |


|  |  |  |
|--|--|--|
|  |  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Hemoclasificadores en solución salina (9 g NaCl/L) o medio albuminoso de acuerdo a lo indicado por el fabricante.</li> <li>• La suspensión de eritrocitos debe ser de 2% al 3% en solución salina (9 g NaCl/L).</li> <li>• Colocar tubos de ensayo de 10 mm x 75 mm en una gradilla y agregar igual volumen de la dilución del suero y de la suspensión de eritrocitos a cada tubo y mezclar</li> <li>• Centrifugar de 15 s a 60 s de 900 FCR a 1 000 FCR</li> <li>• Re-suspender suavemente las células y bajo iluminación apropiada leer macroscópicamente sin demora</li> <li>• Realizar la prueba por duplicado, los títulos de ambas pruebas deben ser reproducibles. Si existen diferencias en las lecturas de dos tubos con la misma dilución del suero, deberá repetirse la prueba.</li> <li>• Lecturas. Los sueros sin diluir más los eritrocitos no se consideran diluciones.</li> <li>• La aglutinación se lee en los tubos con suero que se ha diluido antes de la adición de la suspensión de eritrocitos</li> <li>• Ver 5.2.4 tabla de interpretaciones de aglutinación.</li> <li>• Títulos mínimos aceptables. El Título de los reactivos hemoclasificadores es el recíproco de la mayor dilución del suero que da una lectura de aglutinación de 1+. Ejemplo: si la dilución del suero es de 1:512 el título es de 512.</li> <li>• Registrar los resultados en FT-IS-BS-60 Titulación de antisueros hemoclasificadores para determinar grupos sanguíneos ABO y Rh (D).</li> </ul> |
|--|--|--|

|   |                                      |  |
|---|--------------------------------------|--|
| <b>5.7 Realización titulación a reactivos ANTI Rh</b> |                                      |  |
| <b>5.7.1</b>  | <b>Químico de Control de Calidad</b> | Preparación de diluciones y suspensión de eritrocitos: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Hacer diluciones usando como factor de dilución 2, hasta la dilución 1:128, en caso de ser necesario continuar con las diluciones.</li> <li>• Para la prueba salina en tubo utilizar como diluyente</li> </ul> |




|   |   |  |
|---|---|--|
|  | <b>INSTRUCCIÓN DE TRABAJO VERIFICACIÓN DE<br/>FUNCIONAMIENTO DE REACTIVOS</b> | Código: IT-IS-BS-16  |
|   | <b>DIVISION SERVICIOS AUXILIARES DE<br/>DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</b>         | Página 9 de 16<br>Fecha de Revisión:<br>Septiembre 2019<br>Versión Vigente: 01 |


|              |                                      |  |
|--------------|--------------------------------------|--|
|              |                                      | <p>solución salina (9 g NaCl/L).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Utilizar eritrocitos R1r.</li> <li>• Para la prueba salina en tubo. Preparar una suspensión de eritrocitos de 3% al 5% (que han sido lavados tres veces) y re-suspenderlos en solución salina (9 g NaCl/L).</li> </ul>   |
| <b>5.7.2</b> | <b>Químico de Control de Calidad</b> | <p>Realización de la prueba:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ver anexo 5. Técnica de titulación para sueros hemoclasificadores.</li> <li>• Colocar los tubos de ensayo de tamaño adecuado (ejemplo: 12 mm x 75 mm) en una gradilla y añadir iguales volúmenes de la dilución apropiada del suero y de la suspensión de eritrocitos (ejemplo: 2 gotas de cada uno) a cada tubo y mezclar.</li> <li>• Incubar a 37°C por 60 min.</li> <li>• Centrifugar de 15 s a 60 s de 900 FCR a 1 000 FCR.</li> <li>• Re-suspender nuevamente los eritrocitos y leer inmediatamente con el microscopio la aglutinación bajo la iluminación apropiada.</li> <li>• Los títulos de aglutinación se realizan siempre por duplicado y deberán de repetirse si existe diferencia en las lecturas de dos tubos con la misma dilución del suero.</li> <li>• Lecturas. Los sueros sin diluir más los eritrocitos no se consideran diluciones. La aglutinación se lee en los tubos con suero que se ha diluido antes de la adición de la suspensión de eritrocitos</li> <li>• Títulos mínimos aceptables. El título del reactivo es la recíproca de la mayor dilución del suero que da una lectura de aglutinación de 1+. (Ejemplo: si la dilución del reactivo es de 1:64 el título es de 64).</li> <li>• El título mínimo para Anti D debe ser de 32 usando eritrocitos apropiados.</li> <li>• Registra resultados en FT-IS-BS-60 Titulación de antisueros hemoclasificadores para determinar grupos sanguíneos ABO y Rh (D).</li> <li>•</li> </ul> |

|   |   |                                       |
|---|---|---------------------------------------|
|  | <b>INSTRUCCIÓN DE TRABAJO VERIFICACIÓN DE<br/>FUNCIONAMIENTO DE REACTIVOS</b> | Código: IT-IS-BS-16                   |
|   |   | Página 10 de 16                       |
|   | <b>DIVISION SERVICIOS AUXILIARES DE<br/>DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</b>         | Fecha de Revisión:<br>Septiembre 2019 |
|   |   | Versión Vigente: 01                   |

|  |                               |   |
|--|-------------------------------|---|
| <b>5.8 Control de calidad en el reactivo de Antiglobulina Humana (Suero de Coombs)</b> |                               |   |
| 5.8.1  | Químico de Control de Calidad | Prueba de ESPECIFICIDAD: <ul style="list-style-type: none"> <li>Preparar una suspensión de eritrocitos lavados (Sensibilizados y no sensibilizados) al 2-3% en solución salina.</li> <li>Enfrentar el suero de Coombs contra eritrocitos sensibilizados y no sensibilizados</li> <li>Centrifugar por 20 segundos a 3500 RPM</li> <li>Leer y registrar resultados en FT-IS-BS-15 Verificación del funcionamiento de antiglobulina humana (para la prueba de Coombs).</li> </ul>                    |
| 5.8.2  | Químico de Control de Calidad | INTERPRETACION: <ul style="list-style-type: none"> <li>Aglutinación constituye una prueba positiva.</li> </ul>  |
| 5.8.3  | Químico de Control de Calidad | Prueba de TITULACION: <ul style="list-style-type: none"> <li>Para técnica en tubo se realiza mediante diluciones doble seriadas, ver anexo 5. Técnica de titulación para sueros hemoclasificadores.</li> <li>Una serie de diluciones se enfrenta contra eritrocitos sensibilizados y la otra contra eritrocitos no sensibilizados.</li> <li>Se centrifuga 20 segundos a 3500 rpm</li> <li>Leer y registrar en N/A Bitácora de titulación de antiglobulina Humana (Suero de Coombs).</li> </ul>    |
| 5.8.4  | Químico de Control de Calidad | RESULTADO: <ul style="list-style-type: none"> <li>Reportar la última dilución en donde todavía se observa aglutinación y se reporta en título, que es el recíproco de la dilución, por ejemplo, si la dilución es 1:64 el título es 64.</li> </ul> <p><b>NOTA:</b> La dilución en donde se haya obtenido una dilución de 2 +, será la utilizada en el control de calidad de lavado de material de vidrio (Ver IT-IS-BS-17 Instrucción de trabajo control de calidad para material de vidrio).</p> |
| <b>5.9 Control de calidad de los antisueros: Técnica en Gel para grupos sanguíneos</b> |                               |   |
| 5.9.1  | Químico de Control de         | Evaluación del aspecto físico: <ul style="list-style-type: none"> <li>Deberá observar un volumen uniforme en todos los</li> </ul>   |

|   |   |  |
|---|---|--|
|  | <b>INSTRUCCIÓN DE TRABAJO VERIFICACIÓN DE<br/>FUNCIONAMIENTO DE REACTIVOS</b> | Código: IT-IS-BS-16  |
|   | <b>DIVISION SERVICIOS AUXILIARES DE<br/>DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</b>         | Fecha de Revisión:<br>Septiembre 2019<br><br>Versión Vigente: 01 |


|  |                                      |   |
|--|--------------------------------------|---|
|  | <b>Calidad</b>                       | posillos. <ul style="list-style-type: none"> <li>No se deben observar gotas de gel en la cámara de reacción</li> <li>Debe observarse claramente la diferencia entre el gel y el sobrenadante.</li> <li>No debe haber cambio de coloración y su consistencia debe ser uniforme, libre de burbujas y/o partículas extrañas.</li> <li>Ver anexo 8. Pocillo de tarjeta de Gel.</li> </ul>   |
| <b>5.9.2</b>   | <b>Químico de Control de Calidad</b> | Prueba de ESPECIFICIDAD: Ver IT-IS-BS-29 Instrucción de Trabajo Hemoclasificación ABO Rh (D) <ul style="list-style-type: none"> <li>Imprime reporte de N/A Control de calidad tarjetas de gel ABO y Coombs. (Área de hemoclasificación) y archiva.</li> </ul>   |
| <b>5.10 Control de calidad de los antisueros: Técnica en Gel para antiglobulina humana</b> |                                      |   |
| <b>5.10.1</b>  | <b>Químico de Control de Calidad</b> | Evaluación del aspecto físico: <ul style="list-style-type: none"> <li>Deberá observar un volumen uniforme en todos los posillos.</li> <li>No se deben observar gotas de gel en la cámara de reacción</li> <li>Debe observarse claramente la diferencia entre el gel y el sobrenadante.</li> <li>No debe haber cambio de coloración y su consistencia debe ser uniforme, libre de burbujas y/o partículas extrañas.</li> </ul> Ver anexo 8. Pocillo de tarjeta de Gel. |
| <b>5.10.1</b>  | <b>Químico de Control de Calidad</b> | Para ESPECIFICIDAD: Ver IT-IS-BS-29 Instrucción de Trabajo Hemoclasificación ABO Rh (D)   |
| <b>5.10.2</b>  | <b>Químico de Control de Calidad</b> | INTERPRETACION: <ul style="list-style-type: none"> <li>Imprime reporte de N/A Control de calidad tarjetas de gel ABO y Coombs. (Area de hemoclasificación) y archiva.</li> </ul>  |

|   |   |                                       |
|---|---|---------------------------------------|
|  | <b>INSTRUCCIÓN DE TRABAJO VERIFICACIÓN DE<br/>FUNCIONAMIENTO DE REACTIVOS</b> | Código: IT-IS-BS-16                   |
|   |   | Página 12 de 16                       |
|   | <b>DIVISION SERVICIOS AUXILIARES DE<br/>DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</b>         | Fecha de Revisión:<br>Septiembre 2019 |
|   |   | Versión Vigente: 01                   |

## 6. Anexos:


### Anexo 1. Tabla 1. Verificación y Funcionamiento de los reactivos.

| Reactivos   | Criterios para su valoración y aceptación  | Periodicidad de comprobación                           |
|---|--|--|
| Antisueros hemoclasificadores para determinar grupos sanguíneos AB0 y Rh (D).   | <b>1. Aspecto físico:</b> Ausencia de turbidez, precipitados, partículas, formación de geles en el sobrenadante o cualquier otra anomalía.   | Cada día de uso.                                       |
|   | <b>2. Titulación:</b> se llevará a cabo de conformidad con la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (véase apartado 22.8 de esta Norma).  | Al estreno del lote con una muestra aleatoria de éste. |
|   | <b>3. Avidez:</b> Se realizará cuando utilicen la prueba en placa o en tubo. Los tiempos máximos para el inicio de la aglutinación de los eritrocitos del fenotipo conocido se indican en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (véase apartado 22.8 de esta Norma).                               | Cada día de uso.                                       |
|   | <b>4. Especificidad:</b> Se realizará conforme a lo indicado en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (véase apartado 22.8 de esta Norma).<br>Para los antisueros hemoclasificadores AB0 se usarán células A <sub>1</sub> , A <sub>2</sub> , B y 0; para los del Rh se emplearán células R1r y rr. |  |
| Eritrocitos grupo: A <sub>1</sub> , A <sub>2</sub> , B y 0, para hemoclasificación AB0 mediante la prueba inversa (grupo sérico). | <b>1. Aspecto físico:</b> Ausencia de hemólisis, turbidez, precipitados, partículas, formación de geles en el sobrenadante o cualquier otra anomalía.  | Cada día de uso.                                       |
|   | <b>2. Reactividad/especificidad:</b> Reacciones bien definidas con anti-A, anti-B y, de utilizarse, con anti-A,B.  |  |
| Lectinas  | Especificidad con eritrocitos de grupo A <sub>1</sub> , A <sub>2</sub> y 0.  | Cada día de uso.                                       |
| Antiglobulina humana (para la prueba de Coombs).  | Especificidad con eritrocitos sensibilizados con lo que se indica a continuación<br><b>a)</b> Con inmunoglobulina G;<br><b>b)</b> Con eritrocitos con C3b, C3d o ambos, y<br><b>c)</b> Con eritrocitos no sensibilizados.  | Cada día de uso.                                       |
| Eritrocitos   | Reacción clara de los eritrocitos a los que se le añade  | Cada día uso.  |

|   |   |                                       |
|---|---|---------------------------------------|
|  | <b>INSTRUCCIÓN DE TRABAJO VERIFICACIÓN DE<br/>FUNCIONAMIENTO DE REACTIVOS</b> | Código: IT-IS-BS-16                   |
|   |   | Página 13 de 16                       |
|   | <b>DIVISION SERVICIOS AUXILIARES DE<br/>DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</b>         | Fecha de Revisión:<br>Septiembre 2019 |
|   |   | Versión Vigente: 01                   |

|  |  |                          |
|--|--|--------------------------|
| sensibilizados con IgG para el control de la antiglobulina.                              | antiglobulina  |                          |
| Eritrocitos reactivos para el rastreo de anticuerpos irregulares de importancia clínica. | <b>1. Aspecto físico:</b> Ausencia de hemólisis, turbidez, precipitados, partículas, formación de geles en el sobrenadante o cualquier otra anomalía.  | Con cada lote.           |
|  | <b>2.</b> Demostrar la presencia de anticuerpos irregulares en un suero que contenga anti D y otro que contenga anti Fya (Duffy a), ambos deberán probarse con lo siguiente: <ul style="list-style-type: none"> <li><b>a)</b> Eritrocitos carentes del antígeno correspondiente;</li> <li><b>b)</b> Eritrocitos heterocigotos para el antígeno correspondiente, y.</li> <li><b>c)</b> Eritrocitos homocigotos para el antígeno correspondiente.</li> </ul> |                          |
|  | <b>3.</b> Con control externo  |                          |
| Antisueros para de fenotipo eritrocitos.   | Reacción positiva con eritrocitos heterocigóticos para el antígeno y reacción negativa con eritrocitos carentes del antígeno.  | Cada día de uso.         |
| Solución salina isotónica al 0.9%.   | Aspecto físico: Ausencia de partículas, formación de geles, alteraciones de color u otras.   | Cada vez que se utilice. |
| Reactivos para las pruebas de detección de agentes transmisibles por transfusión.        | Sensibilidad y especificidad empleando controles conocidos, negativos y débilmente positivos. El control débil positivo no deberá ser mayor de tres veces el valor del punto de corte.   | En cada corrida.         |

**TABLA 40. NOM-253-SSA1-2012**, para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos (pags.91-92)

|   |   |                                       |
|---|---|---------------------------------------|
|  | <b>INSTRUCCIÓN DE TRABAJO VERIFICACIÓN DE<br/>FUNCIONAMIENTO DE REACTIVOS</b> | Código: IT-IS-BS-16                   |
|   |   | Página 14 de 16                       |
|   |   | Fecha de Revisión:<br>Septiembre 2019 |
|   | <b>DIVISION SERVICIOS AUXILIARES DE<br/>DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</b>         | Versión Vigente: 01                   |

## Anexo 2. Tiempos máximos aceptables para los sueros hemoclasificadores del sistema ABO.

| SUERO   | GRUPO SANGUINEO O SUBGRUPO DE LOS ERITROCITOS ENSAYADOS | NUMERO DE ESPECIMENES AL AZAR EN PRUEBAS | MAXIMO TIEMPO EN SEGUNDOS PARA QUE SE INICIE LA AGLUTINACION |
|---------|---|--|--|
| ANTI A  | A <sub>1</sub>  | 3  | Inicia a los 2 s y se completa a los 30s                     |
|         | A <sub>2</sub>  | 2  |  |
|         | A <sub>1</sub> B  | 1  |  |
|         | A <sub>2</sub> B  | 3  |  |
|         | A <sub>3</sub>  | 1  |  |
|         | A <sub>x</sub>  | 1  |  |
| ANTI B  | B   | 3  | Inicia a los 2 s y se completa a los 30s                     |
|         | A <sub>1</sub> B  | 1 3                                      |  |
|         | A <sub>2</sub> B  | 1  |  |
| ANTI AB | A <sub>1</sub>  | 2  | Inicia a los 2 s y se completa a los 30s                     |

## Anexo 3. Tiempos máximo aceptables para los reactivos ANTI Rh.

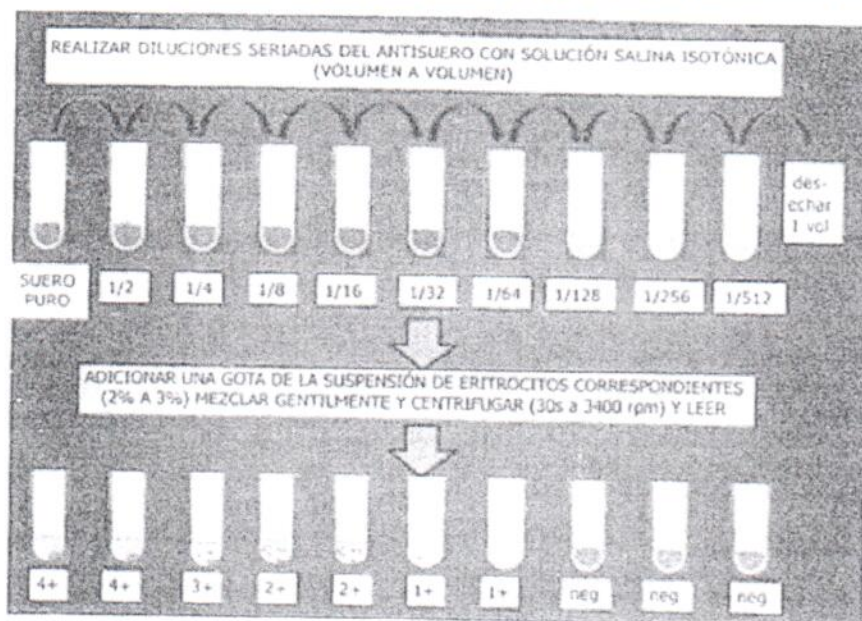
| SUERO  | GRUPO SANGUINEO O SUBGRUPO DE LOS ERITROCITOS ENSAYADOS | NUMERO DE ESPECIMENES AL AZAR EN PRUEBAS | MAXIMO TIEMPO EN SEGUNDOS PARA QUE SE INICIE LA AGLUTINACION |
|--------|---|--|--|
| ANTI D | R <sub>1r</sub>   | 3  | Dentro de los 30 s de mezcla                                 |
|        | R <sup>o</sup> r  | 3  |  |
|        | D débil   | 1  |  |

## Anexo 4. Títulos mínimos aceptables en reactivos hemoclasificadores.

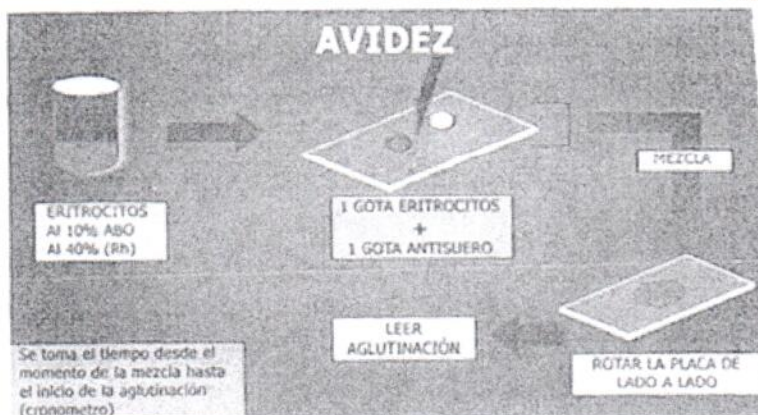
| SUERO   | GRUPO SANGUINEO O SUBGRUPO DE LOS ERITROCITOS DE PRUEBA | NUMERO DE ESPECIMENES PROBADOS | TITULO MINIMO ACEPTABLE |
|---------|---|--------------------------------|-------------------------|
| ANTI A  | A <sub>1</sub>  | 2                              | 128                     |
|         | A <sub>2</sub>  | 2                              | 128                     |
|         | A <sub>1</sub> B  | 2                              | 128                     |
|         | A <sub>2</sub> B  | 3                              | 32                      |
| ANTI B  | B   | 2                              | 128                     |
|         | A <sub>1</sub> B  | 2                              | 128                     |
|         | A <sub>2</sub> B  | 2                              | 128                     |
| ANTI AB | A <sub>1</sub>  | 2                              | 128                     |
|         | A <sub>2</sub>  | 2                              | 64                      |
|         | B   | 2                              | 256                     |
|         | A <sub>2</sub> B  | 2                              | 64                      |


|  |   |                                       |
|--|---|---------------------------------------|
|  | <b>INSTRUCCIÓN DE TRABAJO VERIFICACIÓN DE<br/>FUNCIONAMIENTO DE REACTIVOS</b> | Código: IT-IS-BS-16                   |
|  |   | Página 15 de 16                       |
|  | <b>DIVISION SERVICIOS AUXILIARES DE<br/>DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</b>         | Fecha de Revisión:<br>Septiembre 2019 |
|  |   | Versión Vigente: 01                   |

**Anexo 5. Técnica de titulación para sueros hemoclasificadores.**



**Anexo 6. Técnica de Avidez para sueros hemoclasificadores.**

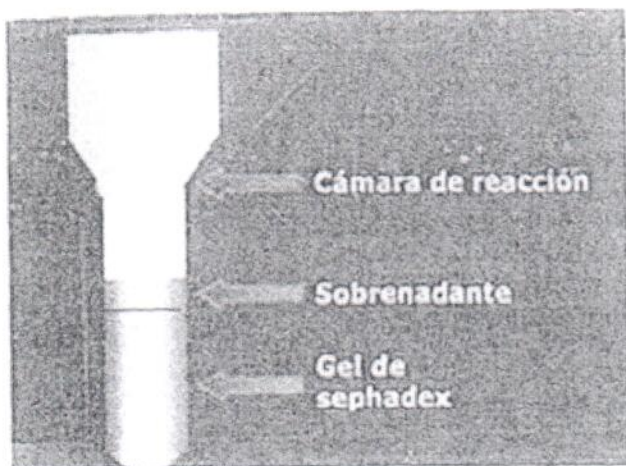


|   |   |   |
|---|---|---|
|  | <b>INSTRUCCIÓN DE TRABAJO VERIFICACIÓN DE<br/>FUNCIONAMIENTO DE REACTIVOS</b> | Código: IT-IS-BS-16   |
|   | <b>DIVISION SERVICIOS AUXILIARES DE<br/>DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO</b>         | Página 16 de 16<br>Fecha de Revisión:<br>Septiembre 2019<br>Versión Vigente: 01 |

### Anexo 7. Correspondencia entre grados de aglutinación y puntaje con técnica en tubo.

| LECTURA | AGLUTINACION   | PUNTOS |
|---------|--|--------|
| ++++    | Total en un solo cúmulo grande.  | 12     |
| +++     | Grandes conglomerados con pocos eritrocitos libres.                                  | 10     |
| ++      | Gran cantidad de conglomerados pequeños con número moderado de eritrocitos libres.   | 08     |
| +       | Conglomerados definidos pero finos (cúmulos de 20 eritrocitos o menos).              | 05     |
| ±       | Eritrocitos dispersos que pueden contener ocasionalmente algún conglomerado pequeño. | 02     |
| -       | Los eritrocitos se mueven libremente. No hay conglomerados visibles.                 | 0      |

### Anexo 8. Pocillo de Tarjeta de Gel.



### 7. Control de Cambios:

| Versión Vigente | Fecha           | Motivo  |
|-----------------|-----------------|---|
| 00              | Marzo 2016      | Alta de documento para dar cumplimiento a la NOM-253-SSA1-2012 Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos. |
| 01              | Septiembre 2019 | Revisión y actualización anual  |