

SALUD

SECRETARÍA DE SALUD



**INSTITUTO NACIONAL DE
CIENCIAS MÉDICAS
Y NUTRICIÓN
SALVADOR ZUBIRÁN**



INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN

MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS DEL BANCO DE CÉLULAS TRONCALES

JUNIO 2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	Índice		HOJA: 1 DE: 7

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	2
I. OBJETIVO DEL MANUAL	4
II. ALCANCE DEL MANUAL	5
III. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN	6
IV. PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS PARA:	7
1. REALIZAR LA CRIOPRESERVACIÓN DE CÉLULAS TRONCALES EN SANGRE PERIFÉRICA	

AUTORIZACIÓN

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	Introducción		HOJA: 2 DE: 7

INTRODUCCIÓN

El uso de altas dosis de quimioterapia, seguidas de un trasplante autólogo de precursores hematopoyéticos de sangre periférica, se ha convertido en un tratamiento estándar para el manejo de diferentes patologías, sobre todo malignidad hematológica.

Hasta no hace demasiado tiempo los precursores hematopoyéticos se obtenían de médula ósea, pero debido a que este procedimiento resulta más complicado, por la necesidad de ser practicado en el quirófano, bajo los efectos de la anestesia y los riesgos por el trauma que involucran las múltiples punciones, esta fuente de recolección ha sido desplazada por células progenitoras hematopoyéticas obtenidas de sangre periférica (CPHSP).

En los últimos años, el uso de CPHSP para el trasplante autólogo y alogénico se ha incrementado significativamente. Según datos del Centro de Investigación Internacional de Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas autólogas y más del 70% de los trasplantes alogénicos se realizan con CPHSP movilizadas. Las ventajas de utilizar CPHSP sobre el uso de células médula ósea son: tiempo de injerto más corto, menor necesidad de transfusiones, menor estancia hospitalaria, facilidad de recolección de las células y restauración rápida del sistema inmunológico.

La recolección de los precursores hematopoyéticos se lleva a cabo posterior a estimulación de la médula ósea para que las células progenitoras (CD34+) migren a sangre, facilitando su recolección de la circulación periférica a través de la realización del procedimiento de aféresis. Este procedimiento se conoce como movilización.

Tradicionalmente, la movilización de CPHSP para los trasplantes autólogos ha sido realizada utilizando solamente citoquinas (factores de crecimiento), o en combinación con quimioterapia.

Sin embargo, los resultados han demostrado que existen grupos de personas beneficiarias incapaces de alcanzar la mínima dosis de CPHSP requerida durante su primera ronda de movilización celular, y precisan una segunda ronda utilizando regímenes de salvamento.

Actualmente cada vez se hace más necesario identificar de forma precisa de las personas beneficiarias con mayor riesgo de ser "pobres movilizadores", en los cuales no se logra recolectar la cantidad mínima necesaria de células CD34+/kg ($\geq 2 \times 10^6/\text{Kg}$) en el primer ciclo de movilización. Factores que favorecen una buena movilización son: diagnóstico de mieloma múltiple, movilización con quimioterapia, dosis de factor de crecimiento y conteos celulares adecuados antes de la recolección (leucocitos, CD34+ $> 20/\mu\text{L}$ y plaquetas). Por el contrario, la edad avanzada, el sexo femenino, el diagnóstico de linfoma no Hodgkin, los tratamientos prolongados con quimioterapia y la historia de radioterapia, son factores predictores de una mala movilización.

Otros factores determinantes en los rendimientos de las recolecciones de precursores hematopoyéticos en sangre periférica son los ligados directamente al procedimiento: el acceso vascular, el flujo sanguíneo, el volumen total procesado, la experiencia del operador y las especificaciones del equipo de aféresis utilizado.

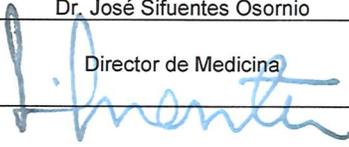
CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	Introducción		HOJA: 3 DE: 7

En general, para que un trasplante autólogo se considere una recolección exitosa cuando el conteo de células CD34+ es de al menos 2×10^6 células/Kg de peso, dosis suficiente para lograr el éxito del injerto, pero idealmente se prefieren recuentos mayores, ya que aceleran el injerto leucocitario y plaquetario y reducen las transfusiones y la hospitalización. En muchos casos este conteo no es alcanzado en un solo procedimiento, por lo que suele necesitarse al menos 2 recolecciones. El hecho de que exista una dosis mínima de células progenitoras que indiquen la posibilidad de éxito del injerto, y que esta dependa de múltiples factores que deben ser monitoreados antes y durante las recolecciones de precursores hematopoyéticos.

Los trasplantes de células progenitoras hematopoyéticas (CPH) se consideran, hoy en día, el tratamiento de elección para una gran variedad de enfermedades tanto malignas como no malignas. El uso de CPH tiene como objetivo restablecer las funciones hematopoyéticas en personas beneficiarias sometidos a altas dosis de quimioterapia, radioterapia, o ambas, y por tal motivo, la conservación de los precursores hematopoyéticos a temperaturas bajas y en condiciones óptimas garantizan su almacenamiento durante el tiempo que sea necesario, con la mínima pérdida de sus capacidades de autorregulación y diferenciación.

Por lo anterior, los servicios de Medicina Transfusional son los responsables de recolectar y procesar las CPH, por lo que el presente manual busca asegurar que los procedimientos, el almacenamiento y la distribución de los productos se ajusten a los requerimientos y lineamientos internacionales para satisfacer las necesidades de atención a las personas beneficiarias.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	Objetivo del Manual		HOJA: 4 DE: 7

I. OBJETIVO DEL MANUAL

Este manual tiene como objetivo principal definir sucintamente las actividades que se desarrollan en el servicio de Banco de Células Troncales para que las servidoras y servidores públicos involucrados y/o interesados, conozcan el proceso de la crío preservación de células troncales o progenitoras hematopoyéticas de sangre periférica con la utilidad de uniformar el proceso y optimizar de los recursos humanos, técnicos y materiales.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	Alcance del Manual		HOJA: 5 DE: 7

II. ALCANCE DEL MANUAL

- A nivel interno:** Este procedimiento aplica al departamento de Hematología y Oncología en la solicitud para la criopreservación y almacenamiento de células troncales en sangre periférica, al banco de Células Troncales en la criopreservación y almacenamiento de células troncales de sangre periférica.
- A nivel externo:** Este procedimiento aplica al Centro Nacional de Transfusión Sanguínea, en el informe mensual del Registro Único de Unidades de Células Troncales.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./ 0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	Criterios de Inclusión y Exclusión		HOJA: 6 DE: 7

III. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Criterios de inclusión

Toda colecta de CPH que cuenta con la indicación de criopreservación por parte de las y los médicos especialistas de Trasplante en Células Progenitoras Hematopoyéticas de la unidad de Atención Continua de Pacientes Oncológicos del departamento de Hematología y Oncología.

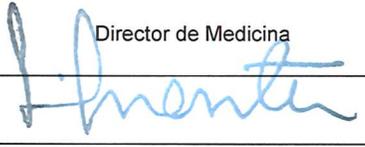
Criterios de exclusión

Toda colecta de CPH que cuenta con la indicación de trasplante en fresco por parte de las y los médicos especialistas de Trasplante en Células Progenitoras Hematopoyéticas de la unidad de Atención Continua de Pacientes Oncológicos del departamento de Hematología y Oncología.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	Procedimientos Técnicos		HOJA: 7 DE: 7

IV. PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Realizar la Criopreservación de Células Troncales en Sangre Periférica		HOJA: 1 DE: 32

1. PROCEDIMIENTO TÉCNICO PARA REALIZAR LA CRIOPRESERVACIÓN DE CÉLULAS TRONCALES EN SANGRE PERIFÉRICA

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Realizar la Criopreservación de Células Troncales en Sangre Periférica		HOJA: 2 DE: 32

1.0 DEFINICIÓN DEL PROCEDIMIENTO TÉCNICO

La congelación celular, ya sea de la médula ósea o de las células troncales de sangre periférica, implica primordialmente un cambio de fase: de un sistema líquido en sólido, por medio del frío a fin de bloquear de una manera homogénea y total todos los sistemas enzimáticos celulares. Esto se realiza de una manera controlada para preservar la viabilidad celular.

2.0 OBJETIVO

Realizar la criopreservación de las células troncales (CT) provenientes de sangre periférica movilizada y/o de médula ósea, obtenidas mediante procedimientos de aféresis y en el quirófano.

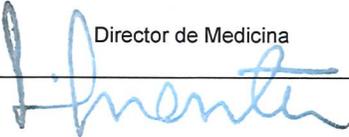
3.0 PROFESIONAL DE SALUD QUE PARTICIPA

Las servidoras y servidores públicos de salud que participa en el procedimiento cuenta con las competencias cognitivas, el conocimiento de los procesos, la actitud y las habilidades que les permite otorgar una atención de calidad y calidez a las personas beneficiarias.

1. Responsable del Banco de Células Troncales
2. Química o Químico del servicio de Medicina Transfusional

4.0 MATERIAL Y EQUIPO NECESARIO

1. Bata quirúrgica estéril
2. Cubre bocas
3. Gorro quirúrgico
4. Guantes estériles
5. Campos estériles
6. Tijeras inoxidable estériles (Mayo)
7. Pinzas inoxidable estériles (Curación)
8. Gasas estériles
9. Torundas de algodón (alcohol)
10. Alcohol al 70%
11. Desinfectante (Clorhexi-Derm))
12. Frascos de precipitado estériles de 100 ml y matraz Erlenmeyer de 250 ml
13. Probeta graduada estéril (100 ml)
14. Acopladores para toma de muestras (Sampling Site Couplers, Fenwal 4C-2405)
15. DMSO estéril (Sigma, Cat D-2650) o USP (Sigma, Cat. D-1435)

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Realizar la Criopreservación de Células Troncales en Sangre Periférica		HOJA: 3 DE: 32

16. Jeringas desechables estériles de 5, 10, y 20 ml
17. Agujas estériles del No, 18 G
18. Bolsa criogénica de 250 ml (CryoMACS)
19. Casete de aluminio (Canister) para bolsa criogénica a 4° C
20. Equipo para congelamiento controlado CryoMed Freezeer
21. N2L a baja presión (22 PSI dewars)
22. Guantes criogénicos
23. Frascos para hemocultivo y de hongos/micoplasma (pediátricos, 1-3 ml)
24. Tubos para Biometría Hemática (EDTA)
25. Hielo frappe
26. Refrigerantes envueltos en papel
27. Azul Tripano al 0.4%
28. Cubre y porta objetos
29. Microscopio óptico
30. Sellador dieléctrico
31. Bolsas para desechos
32. Etiquetas de identificación
33. Campana de Flujo Laminar
34. Depósito para almacenamiento con N2L, Cryoplus 2
35. Formato del material necesario para criopreservar CPH Formato I (**Formato 1**)
36. Formato de registro del procedimiento para criopreservar CPH (Formato II) (**Formato 2**)
37. Marcos metálicos (Racks) numerados
38. Diagrama del sitio de almacenamiento en el depósito de N2L.
39. Pipetas automáticas de 50 µl 200 µl y 1000 µl
40. Puntas para pipetas automáticas de 200 y 1000 µl
41. Solución Salina Fisiológica
42. Portaobjetos
43. Cubreobjetos para cámara de Neubauer
44. Solución de limpieza Dextran-Hipoclorito de Sodio
45. Guantes desechables
46. Lentes de Protección
47. Contenedor de punzo cortantes

5.0 INSTALACIONES FÍSICAS E INFRAESTRUCTURA

El procedimiento de criopreservación de células troncales se realiza en el laboratorio de Criopreservación del Banco de Células Troncales.

El banco de células troncales cuenta con suministro permanente de energía eléctrica, una planta de emergencia en caso de suspensión de energía eléctrica municipal, para asegurar la preservación de las células troncales, sistema de inyección y extracción de aire con filtros purificadores clavijas polarizadas, tomas de corriente para equipos médicos y acceso controlado, los acabados en paredes techos y pisos son lisos de fácil limpieza impermeables, antideslizantes y resistentes a químicos. Señalización de áreas de menor riesgo, salida de emergencia y extintor.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Realizar la Criopreservación de Células Troncales en Sangre Periférica		HOJA: 4 DE: 32

Cuenta con campana de flujo laminar con filtros HEPA, mesas de acero inoxidable, congelador de velocidad controlada tanques de almacenamiento criogénico, equipo de cómputo, taburetes, sillas de trabajo y extintor.

6.0 NORMATIVIDAD ESPECÍFICA Y DOCUMENTOS RELACIONADOS

Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental-salud ambiental - residuos peligrosos biológico-infecciosos - clasificación y especificaciones de manejo.

Norma Oficial Mexicana NOM-030-STPS-2009, Servicios preventivos de seguridad y salud en el trabajo-funciones y actividades.

Norma Oficial Mexicana NOM-007-SCT2/2010. Marcado de envases y embalajes destinados al transporte de sustancias y residuos peligrosos.

Norma Oficial Mexicana NOM-010-SSA2-2010 Para la prevención y el control de la infección por Virus de la Inmunodeficiencia Humana

Norma Oficial Mexicana NOM-007-SSA3-2011. Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos.

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

Norma Oficial Mexicana NOM-006-STPS-2014, Manejo y almacenamiento de materiales-condiciones de seguridad y salud en el trabajo

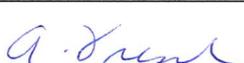
Norma Oficial Mexicana NOM-032-SSA2-2014. Para la vigilancia epidemiológica, promoción, prevención y control de las enfermedades transmitidas por vectores.

7.0 DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA DEL PROCEDIMIENTO

Condiciones generales para la preservación de la ultraestructura y función celular

La resistencia al frío –y al congelamiento– depende de un gran número de diferentes factores. En primer lugar, el descenso repentino de la temperatura puede tener un efecto adverso en ciertas células: una forma de choque térmico, que puede ocurrir tanto por arriba y por debajo del punto de congelamiento. También, la formación de cristales de hielo, dentro y fuera de las células pueden acarrear un gran daño físico.

Otra consecuencia de la formación del hielo es un cambio del medio ambiente extracelular, en donde el congelamiento del agua tiene como resultado un incremento en la concentración de sales de la solución, elevándose a un nivel específico que corresponde al punto eutéctico (eutéctico, adj. dicese de una mezcla de cuerpos sólidos, cuya fusión se realiza a una temperatura constante, como la de los cuerpos puros).

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Realizar la Criopreservación de Células Troncales en Sangre Periférica		HOJA: 5 DE: 32

Un incremento tal en la concentración de los electrolitos permite la deshidratación celular. Es de notar que las células que son más resistentes, son las mismas que son más resistentes en bajar su temperatura.

Choque térmico:

El choque térmico puede ocurrir cuando ciertas células son enfriadas demasiado repentinamente, incluso en la ausencia de cristalización. El rango crítico oscila entre +15 °C y 0 °C, aunque también puede ocurrir entre 0 °C y -80 °C. El choque térmico comienza en la membrana como un resultado de:

1. Contracción diferencial de varios componentes de la membrana
2. Rompimiento mecánico
3. Cambios conformacionales en la topografía de la membrana

El daño infligido no es dependiente significativamente del perfil catiónico en el fluido extracelular, sin embargo, el perfil aniónico es mucho más importante. Los aniones más importantes, desde el menos dañino al más dañino, son el acetato, cloruro, nitrato, yoduro y sulfato.

El choque térmico puede ser minimizado por:

1. Agentes crioprotectores
2. La presencia de ciertos fosfolípidos (fosfatidil serina)
3. Enfriamiento lento
4. Acondicionamiento previo en medios de alta concentración de sales

Umbral de deshidratación:

La mayoría de las células de los vertebrados son susceptibles incluso a una deshidratación parcial (tanto a una temperatura normal o baja). Dependiendo del tipo celular específico y de la especie, las células no pueden tolerar la pérdida de más del 20 al 80% de su línea basal de contenido de agua, estableciéndose así un límite del umbral de deshidratación, en el cual las estructuras celulares sufren un daño irreversible. La correlación entre la resistencia de las células a la deshidratación y su resistencia a las bajas temperaturas es un reflejo de los efectos en el balance iónico. Esto es, el incremento en la concentración de sales que acompaña a la cristalización es el responsable de los efectos más dañinos.

El incremento en la concentración de sales induce la precipitación de proteínas dañando la estructura lipoproteica de la membrana. Al mismo tiempo, la cristalización de los amortiguadores electrolíticos puede inducir grandes cambios del pH. El incremento en la concentración de ciertos iones y compuestos tiene efectos tóxicos en el interior celular.

El congelamiento también puede afectar la naturaleza coloidal del medio intracelular, efecto que puede ser reversible o irreversible. El sistema coloidal puede separarse en dos fases distintas con moléculas de agua asociadas, siendo eliminadas de las macromoléculas orgánicas de tal manera que posteriormente se agregan y se vuelven vitrificadas.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Realizar la Criopreservación de Células Troncales en Sangre Periférica		HOJA: 6 DE: 32

Velocidad de congelamiento y calentamiento:

El método ideal del congelamiento y la velocidad óptima de enfriamiento dependen de varios factores conflictivos, muchos de los cuales son pobremente entendidos. Las condiciones ideales son a menudo determinadas por pruebas de ensayo y error, dando como resultado protocolos, en donde se establece la velocidad del enfriamiento; si la temperatura debería de ser disminuida en intervalos de tiempo; qué agente crioprotector es empleado; etc. El objetivo es prevenir el choque térmico, los efectos adversos de la excesiva concentración de sales, y daño al medio coloidal de la célula. En las velocidades de enfriamiento para uso rutinario, la cristalización y el inicio (seeding) siempre comienzan en el compartimiento extracelular. Esto significa que el balance osmótico de la célula es perturbado, provocando una deshidratación inicial. Una vez que el hielo ha empezado a formarse, un factor importante, con respecto en mantener la viabilidad durante la subsecuente congelación, es la velocidad del cambio de temperatura.

Esto determina:

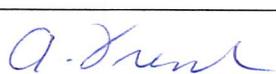
1. La extensión del tiempo de las células durante el punto eutéctico, por ejemplo, el tiempo transcurrido en que son expuestas a una alta concentración de sales
2. La velocidad de congelamiento intracelular
3. El tamaño y la forma de cualquier cristal de hielo formado

Si el enfriamiento es lento, el crecimiento de los cristales de hielo en el compartimiento extracelular es de tal manera que las células se contraen y son expuestas a altas concentraciones de sales. Subsecuentemente, la fase líquida se congela a la temperatura eutéctica. Si el enfriamiento es muy rápido, el agua en el interior de las células forma pequeños cristales de forma irregular que son relativamente inestables. Si las células son descongeladas subsecuentemente muy lentamente, estos cristales se agregarán a una forma más grande, formando cristales más estables, los cuales pueden causar daño.

El incremento en la concentración de sales que acompaña al proceso de congelamiento causa contracción celular, y si continúa por encima de cierto umbral, permite la permeabilización de iones en la membrana. Por ello, la viabilidad celular depende de la velocidad de enfriamiento. La mayor sobrevida a una cierta velocidad disminuirá conforme esta velocidad se incrementa. La velocidad ideal es disminuyendo lentamente la temperatura, que permita a las células perder suficiente agua para prevenir el congelamiento intracelular prematuro. Sin embargo, si la velocidad es demasíadamente lenta, las células serán expuestas a altas concentraciones de sales por un largo periodo de tiempo. Además, el rango ideal de enfriamiento depende del volumen crítico de las células que es definido por:

1. La permeabilidad de la membrana celular al agua
2. El área de la superficie de la membrana
3. La superficie de la célula a su radio de volumen

En resumen, podría decirse que la más simple explicación por el cual una velocidad ideal de enfriamiento existe para ello, es porque la viabilidad celular depende de dos factores conflictivos, los cuales dependen de la velocidad del enfriamiento.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Realizar la Criopreservación de Células Troncales en Sangre Periférica		HOJA: 7 DE: 32

El factor principal que causa la pérdida de la viabilidad es la formación de cristales de hielo intracelularmente, y especialmente la agregación de estos cristales durante el descongelamiento. A una velocidad lenta de enfriamiento la alta concentración de sales resultante, ejerce efectos adversos cuando el agua intracelular—que tiene un alto potencial químico— difunde hacia el exterior celular y se congela en el compartimiento extracelular.

Los porcentajes más altos de supervivencia son obtenidos en una variedad de velocidades de enfriamiento referida como la zona de transición, en el cual el efecto de ambos mecanismos es mínimo.

Preservación a temperaturas bajas:

En el mundo de los seres vivos, la temperatura de $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ es considerada el umbral de temperatura más bajo en el cual ningún proceso vital está permitido. Cuando se contempla el almacenamiento a largo o muy largo plazo, temperaturas por debajo de este umbral deben de ser empleadas.

Medición de la temperatura:

Debido a que la velocidad de congelamiento y descongelamiento pueden tener un mayor impacto en la viabilidad de las células y tejidos, deben de ser medidas en una forma cuantitativa. La mejor manera de realizarlo es generar una curva completa que describa el proceso de congelamiento y descongelamiento. Para esto, lo siguiente puede ser determinado:

1. El enfriamiento antes de que el congelamiento inicie (1)
2. El tiempo de super-enfriamiento (*) y sus parámetros (2)
3. El inicio de la cristalización y la duración de la meseta de la fase de transición (3)
4. El rango en el cual la temperatura desciende después de la fase de transición (4)

Esta curva es referida como el perfil de la temperatura del sistema en consideración y puede ser normalizada a una referencia medible para su fácil manipulación. El parámetro más posible de estimar el rango de enfriamiento, es el tiempo en que la temperatura cae desde 5°C , (al punto en el cual la mayor parte del cambio de fase o eutéctico procede, con su correspondiente liberación del calor latente de fusión) hasta -50°C . Sobre este rango, la temperatura tiende a volverse lineal en función del tiempo. **Ver figura 1.**

(*) súper-enfriamiento: Durante el proceso de congelamiento, el súper-enfriamiento constituye una fase importante y crítica del perfil de temperatura. En términos prácticos, la manera en que una solución es enfriada por debajo de su punto de congelación puede determinar cómo ocurrirá el inicio de la formación de cristales de hielo y por ende la forma de cristalización.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MEDICAS Y NUTRICION SALVADOR ZUBIRAN	CÓDIGO: M.T./0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Realizar la Criopreservación de Células Troncales en Sangre Periférica		HOJA: 8 DE: 32

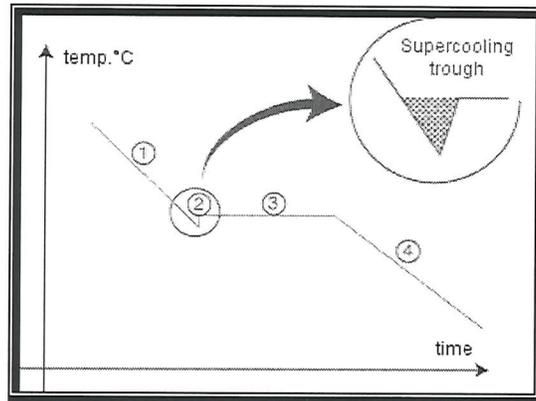


Figura 1: Perfil de la temperatura durante el proceso de congelamiento controlado.

Agentes crioprotectores:

Las causas principales de la destrucción celular son la formación de hielo intracelular, y la exposición a altas concentraciones de sales. El éxito durante el congelamiento depende en mantener un volumen de agua suficiente en la fase líquida, tanto en los compartimientos intracelular y extracelular, para mantener los electrolitos en solución. El inicio y la subsecuente cristalización pueden ser inhibidas por la inactivación del punto del potencial de condensación por medio de un envenenamiento químico. Los agentes usados para este fin son capaces de unirse a las moléculas del agua a través de puentes de hidrógeno y son referidos como crioprotectores, son muy diversos en estructura química, pero todos actúan de la misma manera.

Cualquiera que sea su estructura, todos son muy solubles en agua y por su capacidad de formar puentes de hidrógeno con las moléculas de agua, disminuyen el punto de congelamiento de cualquier solución en la cual son incluidos.

La segunda propiedad importante de estos agentes es de que no son tóxicos a las células. La toxicidad en este caso es más difícil redefinir a consecuencia de condiciones externas, tan opuestas a la naturaleza de producto en sí mismo. En la práctica, la toxicidad depende de la concentración del agente crioprotector, la tonicidad del medio, y de cómo las células están en contacto con el agente. Las otras variables que determinan la extensión a la cual un aditivo en particular será capaz de proteger las células de un sistema biológico dado dependen de factores tales como el peso molecular del compuesto y su habilidad de atravesar la membrana celular.

En términos generales los agentes crioprotectores modulan las propiedades eutécticas de una solución de tal manera que la cantidad de hielo formado y, en consecuencia, la concentración de sales es reducida. Por disminuir el punto de congelamiento del fluido extracelular, ellos inhiben el flujo de agua intracelular, previniendo así la disminución del volumen celular a su mínimo volumen crítico. Por reducir la retracción celular, estos agentes atenúan la hiperconcentración del fluido intracelular y por ello inhiben la precipitación de las proteínas.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Realizar la Criopreservación de Células Troncales en Sangre Periférica		HOJA: 9 DE: 32

En la práctica, una solución salina isotónica (9 gramos de NaCl por litro) en la presencia de 1% de DMSO alcanzará una concentración de 50 g/L a una temperatura de -5 °C.

En presencia de 5% de DMSO, esta concentración no será alcanzada hasta que la temperatura haya descendido a -20 °C y a una concentración de 10% de DMSO no se alcanzará hasta los -50 °C.

La cantidad del daño inducido en las células durante el congelamiento depende de dos factores conflictivos, y ambos dependen de la velocidad de enfriamiento: a velocidades que son demasiado lentas, altas concentraciones de sales serán generadas, ya velocidades que son demasiado rápidas, el hielo se formará en el interior de las células. La máxima viabilidad es obtenida por el enfriamiento a una velocidad en la zona de transición en el cual el efecto combinado de ambos mecanismos es minimizado.

Como regla general, el agente crioprotector parece proteger a las células a velocidades de enfriamiento lento en el cual el daño asociado con los efectos de solución predomina. Basadas en observaciones empíricas, se ha demostrado que el resultado de incrementar la concentración de un agente crioprotector (por ejemplo, glicerol o DMSO) en la suspensión celular siendo enfriada a diferentes velocidades, es trasladar el radio óptimo más inferior acoplado con un incremento del rango general de sobrevida, y se ha documentado que los problemas asociados con el congelamiento intracelular no son afectados por la presencia del agente crioprotector.

Con referencia a la idea de la zona de transición descrita anteriormente, se puede decir que el agente crioprotector presente durante el congelamiento, traslada la zona entera en la dirección de rangos más bajos por disminuir el umbral asociado con el daño causado por la combinación de las altas concentraciones de sales y del hielo intracelular.

Trazabilidad de insumos:

El responsable del laboratorio de medicina transfusional es el responsable de realizar la solicitud de los insumos y reactivos para realizar la criopreservación de células troncales. Basándose en los registros históricos de consumos para garantizar la operación del banco de células troncales.

El Departamento de Ingeniería Biomédica es el responsable de realizar los mantenimientos preventivos y correctivos de los equipos de:

1. Campana de flujo laminar
2. Equipo de congelamiento controlado
3. Depósito de almacenamiento con nitrógeno líquido

TRAZABILIDAD DE LA CRIOPRESERVACIÓN

Procedimientos previos a la criopreservación de CPH:

1. El responsable del banco de Células Troncales realizan las siguientes actividades:

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN	CÓDIGO: M.T./0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Realizar la Criopreservación de Células Troncales en Sangre Periférica		HOJA: 11 DE: 32

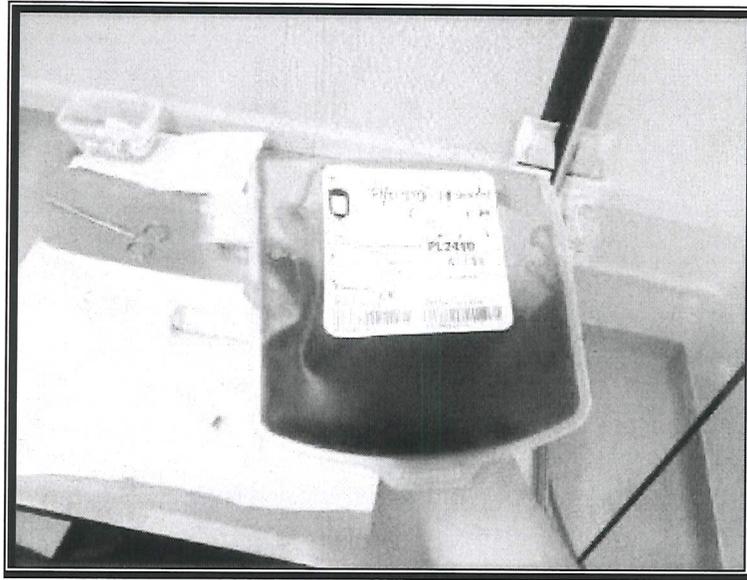


Figura 2: Bolsa de la recolección por aféresis de CPHSP

e. Preparar las etiquetas para rotular las bolsas criogénicas y los casetes de aluminio (canister).

La información de la etiqueta debe contener la siguiente información:

- I. Nombre de la persona donante
- II. No. de unidad o identificación (por ejemplo, expediente)
- III. Fecha
- IV. Producto celular (por ejemplo, CPHSP alogénica, MO o CPHSP autóloga reducida), si es autóloga: solo para uso autólogo.
- V. Número de secuencia de la bolsa criogénica, (por ejemplo, 1 de 3)

Procedimiento para criopreservar:

2. El responsable del Banco de Células Troncales realizan las siguientes actividades:

a. Colocarse la bata quirúrgica estéril, gorro, cubre bocas y guantes estériles para realizar el procedimiento de criopreservación.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Realizar la Criopreservación de Células Troncales en Sangre Periférica		HOJA: 12 DE: 32

- b. Colocar los campos estériles y sobre de ellos la bolsa con las CPHS dentro de la campana de flujo laminar. Realizar la asepsia de uno de los puertos de entrada y colocar un acoplador de toma de muestra en el puerto y realizar su asepsia correspondiente. Colocar las bolsas criogénicas en el interior de la campana. En este momento se puede realizar la asepsia de los puertos de entrada de las bolsas criogénicas y de los frascos de hemocultivo. De igual forma, realizar la asepsia de un extremo de tubo de la bolsa del plasma para poder tomar el volumen indicado para preparar la solución crioprotectora.
- c. Usando una jeringa de 3 ml tomar 2 ml de la suspensión celular de CPHSP, depositar 0.5 ml en un tubo de BH (tubo morado con EDTA) y 1.5 ml en el frasco de hemocultivo microbiológico, rotulados previamente.
- d. Tomar las jeringas de 20 ml con aguja del calibre 18G y llenar cada una a un volumen de 20 ml, a través del acoplador de toma de muestra. Usar las jeringas necesarias para recolectar el volumen total de CPHSP. La última jeringa contendrá menos de 20 ml.
- e. Tapar la aguja con su capuchón cuidadosamente y retirar la aguja de la jeringa (desechar la aguja en un contenedor de punzo cortantes). Unir cada jeringa a una bolsa criogénica. Dispensar la suspensión celular hacia la bolsa, dejando la jeringa unida. Comenzar con la bolsa criogénica # 1.
- f. Repetir el procedimiento con las otras jeringas y bolsas criogénicas. **Ver figura 3.**
- g. Anotar el volumen de cada bolsa criogénica en el formato del registro del procedimiento de criopreservación de CPH formato II. **(Formato 2)**
- h. Colocar las bolsas criogénicas entre los refrigerantes.
- i. Calcular la cantidad de la mezcla crioprotectora (plasma autólogo con DMSO al 10%) para que al ser mezclada 1:1 con las CPH su concentración final sea del DMSO al 5%.

Valores de DMSO-plasma para la medición exacta del DMSO al 10%

Volumen Total (ml)	=	DMSO	+	Plasma
50		5		45
100		10		90
150		15		145
200		20		180

- j. Anotar el volumen de la solución crioprotectora de cada bolsa criogénica en el formato del registro del procedimiento de criopreservación de CPH.
- k. Anotar el volumen total de cada bolsa en el formato del registro del procedimiento de criopreservación de CPH.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Realizar la Criopreservación de Células Troncales en Sangre Periférica		HOJA: 13 DE: 32

- i. Preparar la solución crioprotectora dentro de la campana de flujo laminar. Con la probeta estéril medir la cantidad del plasma autólogo frío (a 4 °C) y depositarlo en un frasco estéril en hielo. Con una jeringa de 20 ml tomar la cantidad necesaria de DMSO y adicionar al plasma mezclando perfectamente para evitar desnaturalizar las proteínas del plasma debido a la reacción exotérmica. **Ver figura 3.**

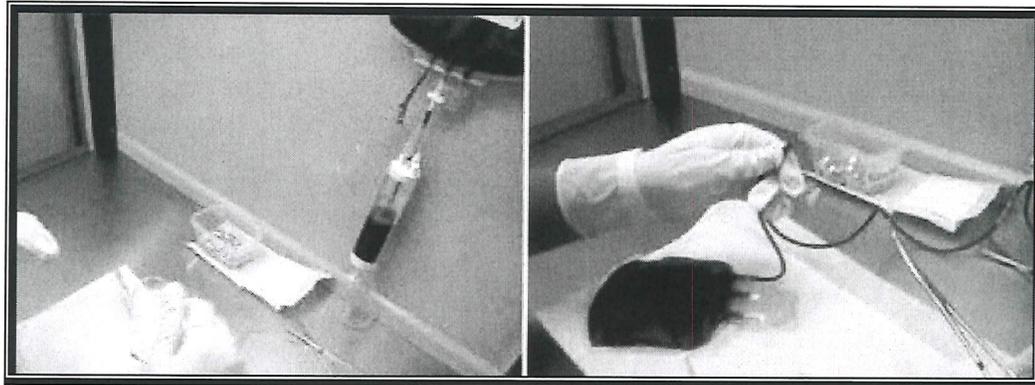


Figura 3: Trasvaso y llenado de las bolsas criogénicas con CPHS y solución crioprotectora

- m. Iniciar el programa correspondiente del congelador programable CryoMed Freezer y permitir que se enfríe a 4 °C.
- n. Tomar con una jeringa de 20 ml la cantidad necesaria de la solución crioprotectora. Retirar la jeringa vacía de la suspensión de CPH, y en su lugar colocar la jeringa de la solución crioprotectora. Secuencialmente y con prontitud adicionar la solución crioprotectora en cada bolsa criogénica con las CPH, mezclar perfectamente las células. Usar el émbolo de la jeringa para retirar la mayor cantidad posible de aire. Con una jeringa de 3 ml tomar aproximadamente 1.5 ml de la mezcla. Colocar 0.5 ml en el tubo de BH, rotulado previamente como post-DMSO, para corroborar su viabilidad. Mantener el tubo a 4 °C. Inocular 1 ml de la mezcla de la bolsa en el frasco de hemocultivo, rotular como post-DMSO.
- o. Sellar la línea de la bolsa criogénica que contiene la jeringa tres veces con un sellador dieléctrico. Cortar con unas tijeras en medio de la línea sellada y desechar la línea unida y la jeringa. Secar rápidamente cada bolsa criogénica y colocar adentro del casete de aluminio (canister) previamente enfriado a 4°C.
- p. Colocar los casetes de aluminio (canister) en la cámara de enfriamiento CryoMed Freezer. Distribuir individualmente los casetes de aluminio (canister) en una gradilla metálica para que se lleve a cabo el proceso en las mismas condiciones el congelamiento.
- q. Cerrar la puerta de la cámara de enfriamiento y oprimir el botón de inicio del equipo de congelamiento. Registrar el programa utilizado para el congelamiento controlado y tiempo de inicio en el formato del registro del procedimiento de criopreservación de CPH. **Ver Figura 4**

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Realizar la Criopreservación de Células Troncales en Sangre Periférica		HOJA: 14 DE: 32

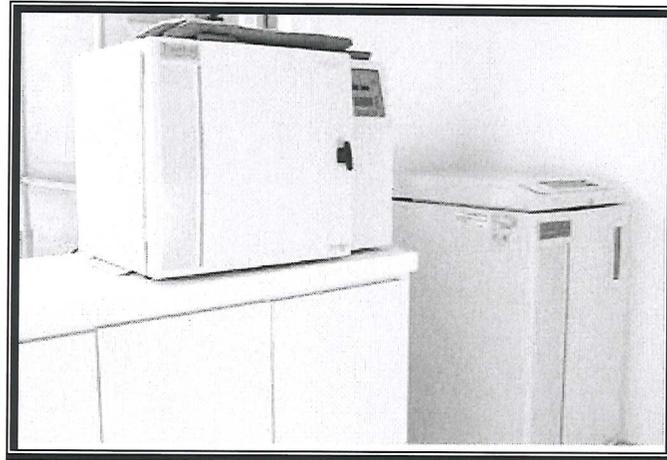
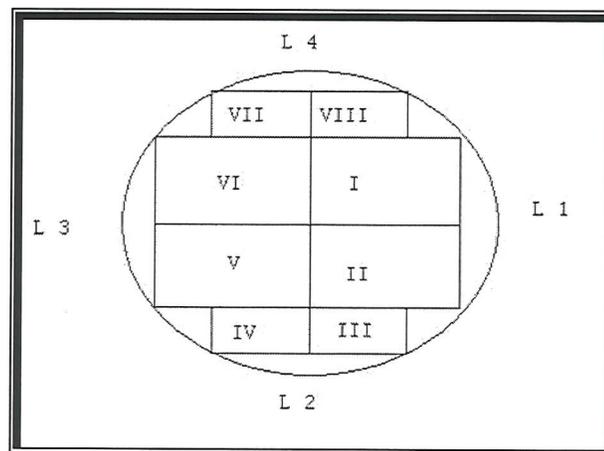
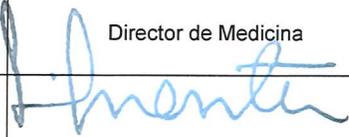


Figura 4: Equipo de congelamiento CryoMed Freezer

- r. Al final del proceso de congelamiento presionar el botón detener. Registrar el tiempo final en el formato del registro del procedimiento de criopreservación de CPH
- s. Abrir la puerta de la cámara de enfriamiento. Con la ayuda de los guantes criogénicos remover los casetes de aluminio (canister) y colocarlos en el depósito de almacenamiento con N₂L Cryoplus 2 en la fase de líquida o de vapor. Anotar el número del marco metálico (rack); el lugar en el marco metálico (rack); la fase de almacenamiento de N₂L, y el sitio dentro del depósito de N₂L en el formato del registro del procedimiento de criopreservación de CPH, según el siguiente diagrama:

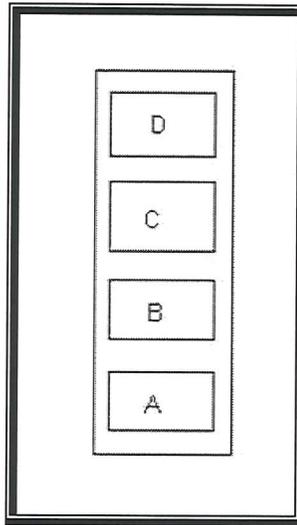
Esquema de la localización dentro del contenedor de N₂L:



CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Realizar la Criopreservación de Células Troncales en Sangre Periférica		HOJA: 15 DE: 32

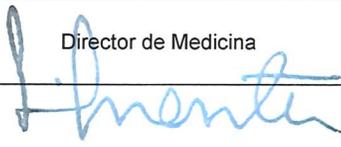
Esquema de la localización dentro del marco metálico (rack):



- t. Cerrar la puerta de la cámara de enfriamiento y accionar el botón de calentamiento (warm) para descongelar la cámara.
- u. Limpiar la campana de flujo laminar con gasas con etanol al 70% y dejar encendida la campana por 10 minutos. Al terminar apagar la campana de flujo laminar. Desechar todo el material de un solo uso en las bolsas correspondientes.

Procedimiento para determinar el número de CMN de las CPH:

3. El responsable del Banco de Células Troncales realiza las siguientes actividades:
 - a. Encender el equipo para biometría hemática (Cell-Dyn) que se encuentra ubicado en el área de donación en el Servicio de Medicina Transfusional
 - b. Evaluar los controles alto, normal y bajo según lo referido en el Manual de Procedimientos del Servicio de Medicina Transfusional, en el apartado de Evaluación a Donadores, Flebotomía.
 - c. Procesar por duplicado la muestra rotulada como pre-DMSO que se obtuvo de la cosecha de CPH. Si los valores están por encima del rango de detección del equipo diluir la muestra de CPH 1:10 con SSF. Obtener el promedio de los valores y reportarlos en el formato del registro del procedimiento de criopreservación de CPH

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Realizar la Criopreservación de Células Troncales en Sangre Periférica		HOJA: 16 DE: 32

d. Calcular el No. De CMN presentes en la muestra y la dosis / Kg de peso, como sigue:

I. Leucocitos totales = valor de leucocitos obtenido del Cell-Dyn (K/ μ l) x 1000000 x dilución (si se realiza) x volumen de la cosecha.

II. CMN totales = % de linfocitos Cell-Dyn + % de monocitos Cell-Dyn \div 100 x leucocitos totales.

III. Dosis de CMN/Kg = CMN totales \div peso del donador.

IV. Anotar los resultados en el formato del registro del procedimiento de criopreservación de CPH.

Procedimiento para determinar la viabilidad celular de las CPH:

4. El responsable del Banco de Células Troncales realiza las siguientes actividades:

a. Verificar que el material este completamente limpio.

b. Rotular un tubo de ensaye de 12 x 75 mm con el nombre donador y CPH-cosecha donador.

c. Rotular otro tubo de ensaye de 12 x 75 mm con el nombre del donador y CPH post-DMSO.

d. Llenar cada tubo 50 μ l de la CPH de la cosecha y de la muestra post-DMSO, respectivamente.

e. Adicionar en cada tubo 50 μ l de la solución de azul tripano al 0.4% y mezclar perfectamente.

f. Adicionar la muestra en la cámara de Neubauer y contar el número de células vivas y muertas con el microscopio óptico (40X).

g. Reportar el porcentaje de viabilidad de las muestras en el formato del registro del procedimiento de criopreservación de CPH. Se considera producto viable la presencia de mayo o igual del 60% de células vivas.

Procedimiento de verificación de la esterilidad del proceso:

5. El responsable del Banco de Células Troncales verifica la esterilidad del proceso mediante el envío de los frascos de hemocultivo inoculados con las CPHSP previo (pre-crio) al procedimiento de criopreservación y después de realizar la adición de la mezcla crioprotectora dentro de las bolsas criogénicas (post-crio) al servicio de Microbiología Clínica para su monitorización de posible desarrollo o ausencia de crecimiento bacteriano.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Realizar la Criopreservación de Células Troncales en Sangre Periférica		HOJA: 17 DE: 32

Procedimiento para el traslado a la fase de vapor y la entrega de CPHSP criopreservadas a la persona beneficiaria

- El responsable del Banco de Células Troncales del Banco de Células Troncales a petición del médico tratante, y con 24 de anticipación, pasa de la fase líquida del Nitrógeno a la fase de vapor en el contenedor de Nitrógeno Líquido.

Este procedimiento lo realiza Químicas o Químicos verificando la identidad de las unidades que se solicitaron. Se registra con los datos solicitados los formatos de CPH criopreservadas (**Formato 3**), control para traslado fase gaseosa (**Formato 4**) y control y verificación de egresos de CPH (**Formato 5**).

- El responsable del Banco de Células Troncales del Banco de Células Troncales entrega a las y los médicos especialistas de Trasplante en Células Progenitoras Hematopoyéticas de la unidad de Atención continua de Pacientes Oncológicos del Departamento de Hematología y Oncología (Médica o Médico Tratante), y con la solicitud correspondiente, las CPHSP criopreservadas dentro de un contenedor térmico pequeño conteniendo una gradilla metálica con Nitrógeno líquido hasta la mitad y encima de la gradilla se colocarán las unidades de CPHSP. El procedimiento de entrega-recepción de CPHSP es verificado tanto por las Químicas y Químicos del Banco de Células Troncales y el personal médico que tomará las CPHSP. **Ver figura 5.**

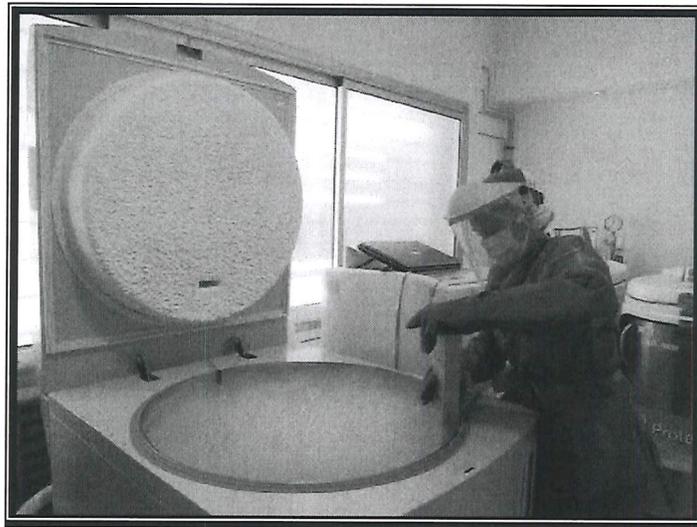
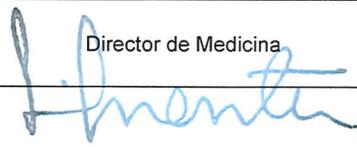


Figura 5: Traslado a la fase de vapor en el contenedor de nitrógeno líquido de las CPHSP.

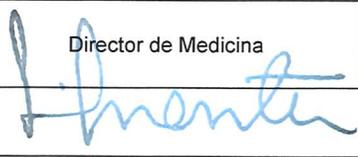
CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Realizar la Criopreservación de Células Troncales en Sangre Periférica		HOJA: 18 DE: 32

8.0 DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO

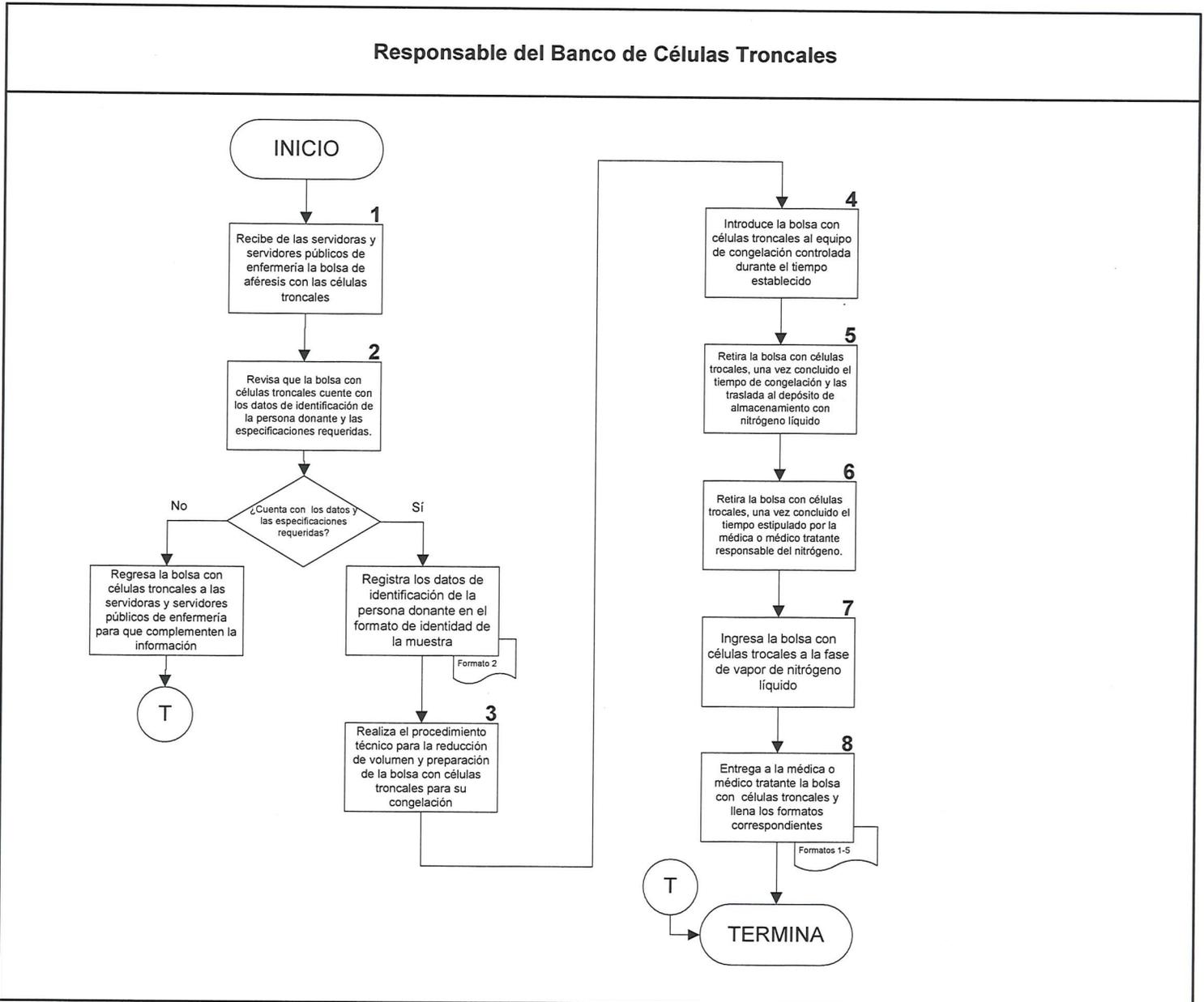
RESPONSABLE	ACTIVIDAD	DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD
Responsable del Banco de Células Troncales	1	Recibe de las servidoras y servidores públicos de enfermería la bolsa de aféresis con las células troncales.
Responsable del Banco de Células Troncales	2	<p>Revisa que la bolsa de aféresis con las células troncales cuente con los datos de identificación de la persona donante y las especificaciones requeridas.</p> <p>¿Cuenta con los datos y las especificaciones requeridas?</p> <p>No: Regresa la bolsa de aféresis con las células troncales a las servidoras y servidores públicos de enfermería para que complementen la información. TERMINA PROCEDIMIENTO</p> <p>Sí: Registra los datos de identificación de la persona donante en el formato de identidad de la muestra (Formato 2)</p>
Responsable del Banco de Células Troncales	3	Realiza el procedimiento técnico para la reducción de volumen y preparación de la bolsa de aféresis con las células troncales para su congelación.
Responsable del Banco de Células Troncales	4	Introduce la bolsa de aféresis con las células troncales al equipo de congelación controlada durante el tiempo establecido.
Responsable del Banco de Células Troncales	5	Retira la bolsa de aféresis con las células troncales, una vez concluido el tiempo de congelación y las traslada al depósito de almacenamiento con nitrógeno líquido.
Responsable del Banco de Células Troncales	6	Retira la bolsa de aféresis con las células troncales, una vez concluido el tiempo estipulado por la médica o médico tratante responsable del nitrógeno.
Responsable del Banco de Células Troncales	7	Ingresa la bolsa de aféresis con las células troncales a la fase de vapor de nitrógeno líquido.
Responsable del Banco de Células Troncales	8	Entrega a la médica o médico tratante la bolsa de aféresis con las células troncales y llena los formatos correspondientes (Formato 1-5)

TERMINA PROCEDIMIENTO

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022



5.0 DIAGRAMA DE FLUJO



Nota:
 -Formato 1: Material Necesario. -Bolsa con células troncales, es igual a la bolsa de aféresis con las células troncales.
 -Formato 2: Registro del Procedimiento de Criopreservación.
 -Formato 3: CPH Criopreservadas.
 -Formato 4: Control para Traslado a Fase Gaseosa.
 -Formato 5: Control y Verificación de Egresos de CPH.

CONTROL DE EMISIÓN

	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

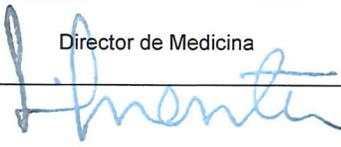
	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Realizar la Criopreservación de Células Troncales en Sangre Periférica		HOJA: 20 DE: 32

10.0 MEDIDAS DE CONTROL PARA ELEVAR LA CALIDAD Y SEGURIDAD DE LAS PERSONAS BENEFICIARIAS

1. Identificación de la persona beneficiaria y doble verificación al momento de la entrega de las células.
2. Comunicación efectiva
3. Seguridad en los procedimientos

11.0 GLOSARIO DE TÉRMINOS

- 11.1 BH:** Biometría Hemática.
- 11.2 Células Troncales (CT) o Progenitoras Hematopoyéticas (CPH):** Células que se hallan en la médula ósea, tejido esponjoso que se encuentra en la parte media de los huesos y que circulan en la sangre. Son células primitivas pluripotenciales capaces de auto renovarse y diferenciarse en las diferentes células maduras de todos los linajes de los elementos sanguíneos.
- 11.3 CMN:** Células mononucleares.
- 11.4 DMSO:** Dimetilsulfóxido.
- 11.5 EDTA:** Anticoagulante, Etilendiaminotetraacético disódico.
- 11.6 Hematopoyético:** Agente causante de la hematopoyesis.
- 11.7 Hg:** Hemoglobina.
- 11.8 Hto:** Hematocrito.
- 11.9 Médula Ósea:** Tejido blando y esponjoso, ubicado en el centro de la mayoría de los huesos grandes, que produce glóbulos blancos, glóbulos rojos y plaquetas.
- 11.10 MO:** Médula Ósea.
- 11.11 SP:** Sangre periférica
- 11.12 Sangre periférica:** Sangre que circula por todo el cuerpo.
- 11.13 SSF:** Solución salina fisiológica al 0.9%.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Realizar la Criopreservación de Células Troncales en Sangre Periférica		HOJA: 21 DE: 32

11.14 Recolección de CPH de Sangre Periférica (CPHSP): Procedimiento que se realiza mediante aféresis, después de la movilización de las CPH hacia la SP con Factor Estimulante de Colonias (FEC) y/o quimioterapia (para trasplante autólogo y alogénico).

12.0 REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- Joe Wolfe. (2002) "Cellular Thermodynamics" *Cellular Thermodynamics—ENCYCLOPEDIA OF LIFE SCIENCES* 1-17.
- Joe Wolfe and Gary Bryant. (2001) "Cellular cryobiology: thermodynamic and mechanical effects" *Int. J. Refri.* 24, 438-450.
- Grønbech-Jensen, N., Mashl, R.J., Bruinsma¹, R.F., and Gelbart, W.M. (1997) "Counterion-Induced Attraction between Rigid Polyelectrolytes" *Pys. Rev. Lett.*: 78, 2477-2480.
- Israelachvili, J.N., Marc'elja, S. Horn, R.G. (1980) "Physical principles of membrane organisation" *Q. Rev. Biophys.*: 13, 121-200.
- Landau, D.L. and Lifshitz, E.M. (1969) *Statistical physics*. Translated by Peierls, E. and Peierls, R.F. Pergamon Press; Addison-Wesley, Reading, Mass.
- Morris, C.E. and Homann, U. (2001) Cell surface area regulation and membrane tension, *J. Membrane Biol.* 179, 79-102.
- Slatyer, RO (1967) *Plant-water relationships*, Academic, London, New York.
- Wolfe, J. and Bryant, G. (1999) "Freezing, drying and/or vitrification of membranesolute-water systems" *Cryobiology*: 39, 103-129.
- Wolfe, J. and Steponkus, P.L. (1983) "Mechanical properties of the plasma membrane of isolated plant protoplasts". *Pl. Phys.*: 71, 276-285.
- Abrahamsen J.F, Bakken A.M., Bruserud. (2002) "Cryopreserving human peripheral blood progenitor cells with 5-percent rather than 10-percent DMSO results in less apoptosis and necrosis in CD34+ cells" *TRANSFUSION*: 42, 1573-1580.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Realizar la Criopreservación de Células Troncales en Sangre Periférica		HOJA: 22 DE: 32

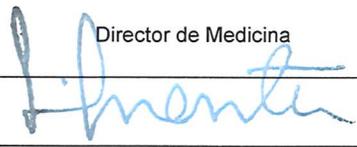
13.0 CAMBIOS EN ESTA VERSIÓN

Número de revisión	Fecha de la actualización	Descripción del cambio
No aplica	No aplica	No aplica

14.0 FORMATOS E INSTRUCTIVOS

FORMATO 14.1: MATERIAL NECESARIO PARA LA CRIOPRESERVACIÓN

No.	CONCEPTO	SE ANOTARÁ
1	Material utilizado	Elegir SI o NO se encuentra preparado
2	RESPONSABLE DEL PROCESO	Nombre completo del responsable del banco de células troncales.
3	FECHA	Día, mes y año en que se realiza la revisión del material para el procedimiento.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MEDICAS Y NUTRICION SALVADOR ZUBIRAN	CÓDIGO: M.T./0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Realizar la Criopreservación de Células Troncales en Sangre Periférica		HOJA: 23 DE: 32



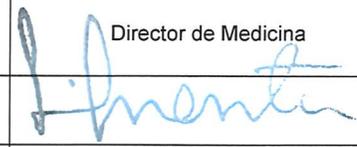
**INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MEDICAS
Y NUTRICION SALVADOR ZUBIRAN**
CRIOBIOLOGIA
**Banco de Células
Troncales**

**PROCEDIMIENTOS
FORMATOS
CRIOBIOLOGIA**

**MATERIAL NECESARIO PARA LA CRIOPRESERVAR CPH
FORMATO I**

	PREPARADO
1. Bata quirúrgica	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
2. Cubre bocas	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
3. Gorro quirúrgico	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
4. Guantes estériles	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
5. Campos estériles	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
6. Tijeras Mayo Inoxidables estériles	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
7. Pinzas de curación Inoxidables estériles	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
8. Gasas chicas estériles	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
9. Torundas de algodón (jabón, alcohol, Isodine)	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
10. Alcohol isopropílico al 70%	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
11. Desinfectante (fenol al 5%,)	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
12. Clortexidina	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
13. Frascos estériles (100 ml) o más grandes o Frasco de 250 ml	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
14. Probeta graduada estéril (10 ml)	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
15. Acopladores para tubo de muestra (Sampling Site Couplers, Fenwal 4C-2405)	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
16. DMSO (Dimetilsulfóxido)	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
17. Jeringas desechables estériles de 5, 10, y 20 ml	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
18. Aguja estériles del No. 16	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
19. Criobolsa de poliolefina (volumen de 250 ml o 500 ml)	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
20. Canister para criobolsas de poliolefina a 4° C	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
21. Equipo para congelamiento controlado Criomed	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
22. Nitrógeno líquido (NL ₂) a baja presión (22 PSI dewars)	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
23. Guantes criogénicos	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
24. Frascos para hemocultivo (pediátricos, 1-3 ml)	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
25. Tubos para Biometría Hemática	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
26. Hielo tráppe	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
27. Refrigerantes envueltos en papel	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
28. Azul Tripano al 0.4%	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
29. Cubre y porta objetos	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
30. Microscopio óptico	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
32. Grapas metálicas y rodillo	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
33. Sellador dieléctrico	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
34. Bolsas para desechos	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
35. Etiquetas de identificación	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
36. Crioviales estériles	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>
37. Campana de Bioseguridad	S <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>

CANCELADO

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MEDICAS Y NUTRICION SALVADOR ZUBIRAN	CÓDIGO: M.T./0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Realizar la Criopreservación de Células Troncales en Sangre Periférica		HOJA: 24 DE: 32



INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MEDICAS
Y NUTRICION SALVADOR ZUBIRAN

CRIOBIOLOGIA

Procedimientos
Formatos
CRIOBIOLOGIA

Banco de Células
Troncales

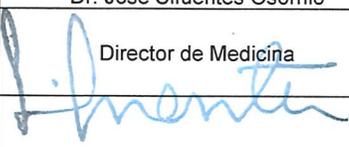
MATERIAL NECESARIO PARA LA CRIOPRESERVAR CPH (Cont.)

38. Depósito para almacenamiento con Nitrogeno liquido	SI	NO	
39. Formato del material necesario para criopreservar CPH (Formato I)	SI	NO	
40. Formato de registro del procedimiento para criopreservar CPH (Formato II)	SI	NO	
41. Racks numerados	SI	NO	
42. Diagrama del sitio de almacenamiento en el depósito de N ₂	SI	NO	
43. Pipetas automáticas de 200 µl y 1000 µl	SI	NO	
44. Puntas desechables para pipetas automáticas de 200 y 1000 µl	SI	NO	
45. Solución Salina Fisiológica	SI	NO	
46. Conocer la ubicación del material y reactivos	SI	NO	
47. Leer el manual de procedimientos	SI	NO	
48. Leer las instrucciones sobre el uso de la bolsa criogénica	SI	NO	
49. Contenedor para desechos punales potencialmente infecciosos	SI	NO	
50. Recipiente y bolsas para los desechos	SI	NO	
51. Maskingtape.	SI	NO	

1

RESPONSABLE DEL PROCESO: _____ 2

FECHA: _____ 3

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Realizar la Criopreservación de Células Troncales en Sangre Periférica		HOJA: 25 DE: 32

FORMATO 14.2: REGISTRO DEL PROCEDIMIENTO DE CRIOPRESERVACIÓN DE CPH

No.	CONCEPTO	SE ANOTARÁ
1	Nombre	Nombre completo de la persona donante.
2	Edad	Edad de la persona donante
3	Peso	Peso de la persona donante
4	Diagnostico	Diagnostico de la persona donante
5	Registro	Número de registro de la persona donante
6	Cama	Número de cama de la persona donante
7	Grupo sanguíneo	Grupo sanguíneo de la persona donante
8	Equipo de aféresis	Nombre del equipo en que se realiza la recolección.
9	Volumen sanguíneo procesado	Número de mililitros de sangre circulada
10	No. Procedimiento realizado	El número de recolección de células troncales de la persona donante.
11	Serología	Resultado de los estudios serológicos de las células troncales.
12	Clase de recolección	Elegir la opción de manera en que se realizó la recolección de la sangre.
13	Criopreservación	Elegir los datos de identificación de las células troncales para su congelación.
14	Resultados de la cosecha de CT	Elegir los datos de la muestra obtenidos por los equipos en los que se determinó su proceso.
15	Observaciones	Incidencias observadas durante el procedimiento.
16	Nombre del receptor	Nombre de la persona beneficiaria que recibe las células troncales.
17	Fecha	Día, mes y año en que se realiza el procedimiento.
18	Realizo procedimiento	Nombre completo del responsable del banco de células troncales.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN	CÓDIGO: M.T./0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Realizar la Criopreservación de Células Troncales en Sangre Periférica		HOJA: 26 DE: 32



INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN

PROCEDIMIENTOS
FORMATOS
CRIOBIOLOGÍA

CRIOBIOLOGÍA

Banco de Células Troncales

REGISTRO DEL PROCEDIMIENTO DE CRIOPRESERVACION DE CPH
FORMATO II

IDENTIDAD DE LA MUESTRA

Nombre: 1	Edad: 2	Peso: 3
Dx: 4	Registro: 5	Cama: 6
Gpo Sanguíneo/Rh: 7		
Equipo de Aferesis: 8		Sanguíneo Procesador: 9
No. Procedimiento realizado: 10	Serología: 11 HVC	Vit HVS VDRL

CLASE DE RECOLECCIÓN 12

Aferesis:	Audiología:	Algenica:	Proceso Automat:
Medios Coes:	Audiología:	Algenica:	Proceso Automat:
Célas:			

CRIOPRESERVACIÓN 13

Nº. Unidades:	Programa Cryomedi:	
Bolsas Criogénicas	Lote:	Marca:
DMSO	Lote:	Marca:
Volumen CPH	Bolsa 2:	Bolsa 3:
Volumen Plasma y Volumen DMSO	Bolsa 2:	Bolsa 3:
Volumen Total	Bolsa 2:	Bolsa 3:
Bolsa 1 Rack No.:	Bolsa 3 Rack No.:	Sitio en Reservorio:
Fase en Nú.:	Inicio del proceso:	hora final:

RESULTADOS DE LA COSECHA DE CPH 14

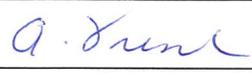
Leucocitos:	K μ L	Eritrocitos:	M μ L
Neutrofilos:	%	Hb:	g/dl
Linfocitos:	%	Hta:	%
Monocitos:	%	Plaquetas:	K μ L
Eosinofilos:	%	CMN:	K μ L
Basofilos:	%	Célas CD34:	K μ L
Fecha de Resección:			
Volumen de Resección:	ml	Viabilidad pre-congelamiento:	%
Leucocitos Totales:	(x 10 ⁶)	Viabilidad post-DMSO:	%
CMN Totales:	(x 10 ⁶)	Viabilidad post-descongelamiento:	%
Célas CD34 Totales:	(x 10 ⁶)	Hemocultivo cosecha:	
CMN/Kg:	(x 10 ⁶ /Kg)	Hemocultivo post-DMSO:	
Célas CD34/Kg:	(x 10 ⁶ /Kg)	Hemocultivo post-descongelamiento:	

Observaciones: _____ 15 _____

Nombre del Receptor: _____ 16 _____ Fecha: _____ 17 _____

Médico Solicitante: _____

Realizó procedimiento: _____ 18 _____

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Realizar la Criopreservación de Células Troncales en Sangre Periférica		HOJA: 27 DE: 32

FORMATO 14.3: CPH CRIOPRESERVADAS

No.	CONCEPTO	SE ANOTARÁ
1	No. persona donante	Número consecutivo de la muestra.
2	Nombre	Nombre completo de la persona donante.
3	No. recolección	Número de recolección realizada a la persona donante.
4	No. unidad	Número de unidad registrada de las células troncales.
5	No. Bolsas	Número de bolsas utilizadas de la recolección.
6	Vol de CPH	Volumen total de células troncales en la recolección.
7	Vol. Total de DMSO (ml)	Volumen en mililitros de dimetilsulfoxido DMSO utilizado
8	Volumen total de la bolsa (ml)	Volumen en mililitros de células troncales y de DMSO
9	Dosis (CD34x10 ⁶ /kg)	Dosis de CD34 en células troncales
10	Fecha de crio	Día, mes y año en que se realiza la crio preservación.
11	Fecha de egreso	Día, mes y año en que se entregan las células troncales.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN	CÓDIGO: M.T./0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Realizar la Criopreservación de Células Troncales en Sangre Periférica		HOJA: 28 DE: 32



INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN

SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL

BANCO DE CELULAS TRONCALES

CPH CRIOPRESERVADAS

CARACTERÍSTICAS

No. persona donante	Nombre	No. recolección	No. unidad	No. bolsas	Vol. de CPH (ml)	Vol. Total de DMSO (ml)	Volumen total por bolsa (ml) *	Dosis (CD34 x 10 ⁶ /kg)	Fecha de Cria.	Fecha de egreso
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
CANCELADO										

* 1 volumen de CPH + 1 volumen de solución crioprotectora con DMSO al 10%

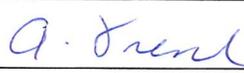
FR-CRIO-01

CONTROL DE EMISIÓN		
Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre: Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto: Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma: 		
Fecha: 15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN	CÓDIGO: M.T./0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Realizar la Criopreservación de Células Troncales en Sangre Periférica		HOJA: 29 DE: 32

FORMATO 14.4: CONTROL PARA TRASLADO A FASE GASEOSA

No.	CONCEPTO	SE ANOTARÁ
1	Nombre persona donante	Nombre completo de la persona donante.
2	Localización contenedor NL ₂	Número de nivel donde se almacenan en el contenedor las células troncales.
3	Traslado fase gaseosa de NL ₂ /No. unidad (bolsa)	Número de unidad y bolsa de células troncales
4	Realizado por, nombre y firma	Nombre completo y firma del responsable del banco de células troncales.
5	Verificado por, nombre y firma	Nombre completo y firma de otro químico del banco de células troncales.
6	Fecha	Día, mes y año en que se realiza el traslado.

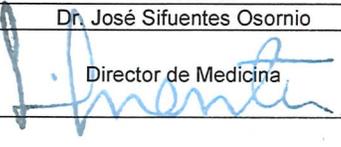
CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN	CÓDIGO: M.T./0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Realizar la Criopreservación de Células Troncales en Sangre Periférica		HOJA: 30 DE: 32


 INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN
 SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL
 BANCO DE CÉLULAS TRONCALES
CONTROL PARA TRASLADO A FASE GASEOSA

Nombre de persona donante	Localización Contenedor NL ₂	Traslado a Fase Gaseosa del NL ₂	Realizado por, Nombre y Firma	Verificado por, Nombre y Firma	Fecha
		No. Unidad (Bolsa)			
1	2	3	4	5	6
CANCELADO					

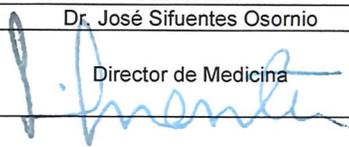
FR-CRIO-02

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Realizar la Criopreservación de Células Troncales en Sangre Periférica		HOJA: 31 DE: 32

FORMATO 14.5: CONTROL Y VERIFICACIÓN DE EGRESOS DE CPH

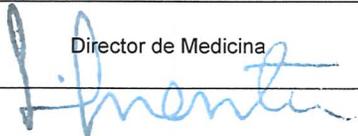
No.	CONCEPTO	SE ANOTARÁ
1	Nombre persona donante	Nombre completo de la persona donante.
2	No. unidad (bolsa)	Número de unidad y bolsa de células troncales
3	Realizado por, nombre y firma	Nombre completo y firma del responsable del banco de células troncales.
4	Verificado por, nombre y firma	Nombre completo y firma de otro químico del banco de células troncales.
5	Médico que verifica la identidad de las unidades, nombre y firma	Nombre completo de la médica o médico a quien se le entregan las células troncales.
6	Fecha	Día, mes y año en que se entregan las células troncales.
7	Nombre del receptor	Nombre de la persona beneficiaria a quien se le aplicaran las células troncales.
8	No. Exp	Número de registro institucional de la persona beneficiaria.
9	Cama	Número de cama de la persona beneficiaria.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS	 INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN	CÓDIGO: M.T./0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	1. Procedimiento Técnico para Realizar la Criopreservación de Células Troncales en Sangre Periférica		HOJA: 32 DE: 32

 INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN SERVICIO DE MEDICINA TRANFUSIONAL BANCO DE CELULAS TRONCALES CONTROL Y VERIFICACION DE EGRESOS DE CPH					
Entrega de CPH		Realizado por, Nombre y Firma	Verificado por, Nombre y Firma	Médico que verifica la identidad de las Unidades, Nombre y Firma	Fecha
Nombre persona donante	No. Unidad (Bolsa)				
1	2	3	4	5	6
CANCELADO					
Nombre del Receptor: _____		7	No. Exp.: _____	8	Cama: _____
FR-CR10-03					

El presente documento fue autorizado por el Comité de Mejora Regulatoria Interna en la primera sesión extraordinaria de fecha 15/06/2022.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	Autorización		HOJA: 1 DE: 2

AUTORIZACIÓN

ELABORADO POR:


 Dr. Juan Rangel Patiño.
 Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales.

REVISADO POR:


 Dra. Alicia Josefina Frenk Mora.
 Subdirectora de Servicios Paramédicos.

REVISIÓN METODOLÓGICA:


 Mtro. Miguel Angel Lima Alarcón.
 Jefe del Departamento de Organización y Modernización Administrativa.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022

	MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS		CÓDIGO: M.T./0.2.3.0.2
	Banco de Células Troncales		REV: 00
	Autorización		HOJA: 2 DE: 2

REVISIÓN METODOLÓGICA:



C.P. Remedios Verónica Hernández Tenorio.
Coordinadora de Organización y Modernización.

AUTORIZADO POR:



Dr. José Sifuentes Osornio.
Director de Medicina.



Dr. David Kershenobich Stalnikowitz.
Director General.

CONTROL DE EMISIÓN			
	Elaboró:	Revisó:	Autorizó:
Nombre:	Dr. Juan Rangel Patiño	Dra. Alicia Josefina Frenk Mora	Dr. José Sifuentes Osornio
Cargo-puesto:	Coordinador del Servicio de Medicina Transfusional, del Centro de Colecta de Células Troncales y del Banco de Células Troncales	Subdirectora de Servicios Paramédicos	Director de Medicina
Firma:			
Fecha:	15-06-2022	15-06-2022	15-06-2022