Los espectros de impedancia no cumplen del todo el principio de superposición, porque si bien es cierto que el modelo eléctrico de Cole-Cole es lineal ya que utiliza la adición de elementos eléctricos invariantes en sus propiedades intrínsecas a nivel de excitación externo y se cumple la ley de Ohm, los espectros de impedancia tienen una característica fractal: el mismo modelo se puede encontrar en el bulto y en los componentes individuales cada vez que se aísla uno de ellos, pero la suma no da el total, ya que

1.- Los elementos individuales poseen diferentes frecuencias características de excitación (constantes de tiempo)

2.- La impedancia total depende del acomodo de los elementos microscópicos y de las propiedades de contacto entre ellos, lo que significa que la mezcla es más complicada que la suma algebraica de los componentes.

3.-Los glóbulos rojos poseen una carga neta en su membrana que incluye un factor adicional en la energía eléctrica por unidad de volumen.

A continuación se expondrán las gráficas comparativas de la sangre entera y de sus componentes para apreciar mejor sus diferencias:

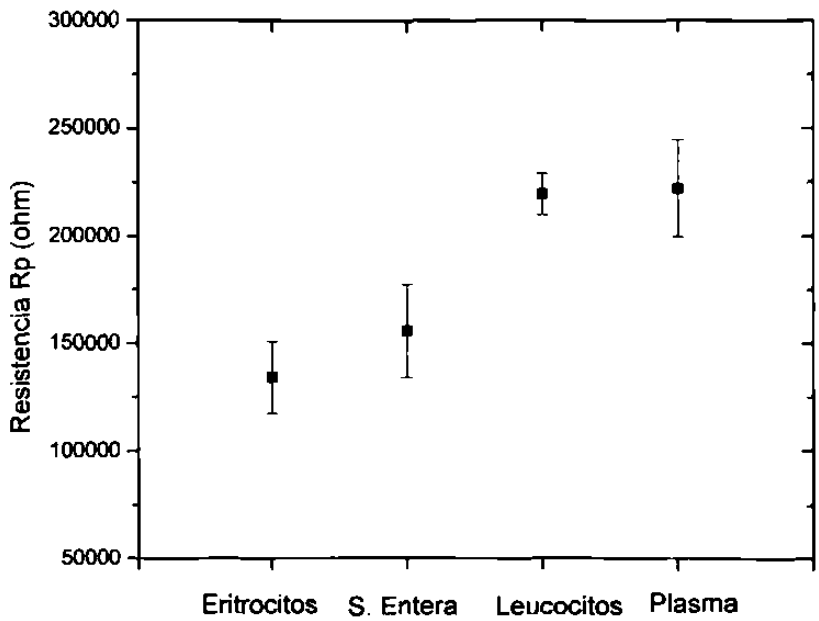

Figura 6.21 Correlación de los componentes de la sangre y sangre entera para el parámetro Rp.

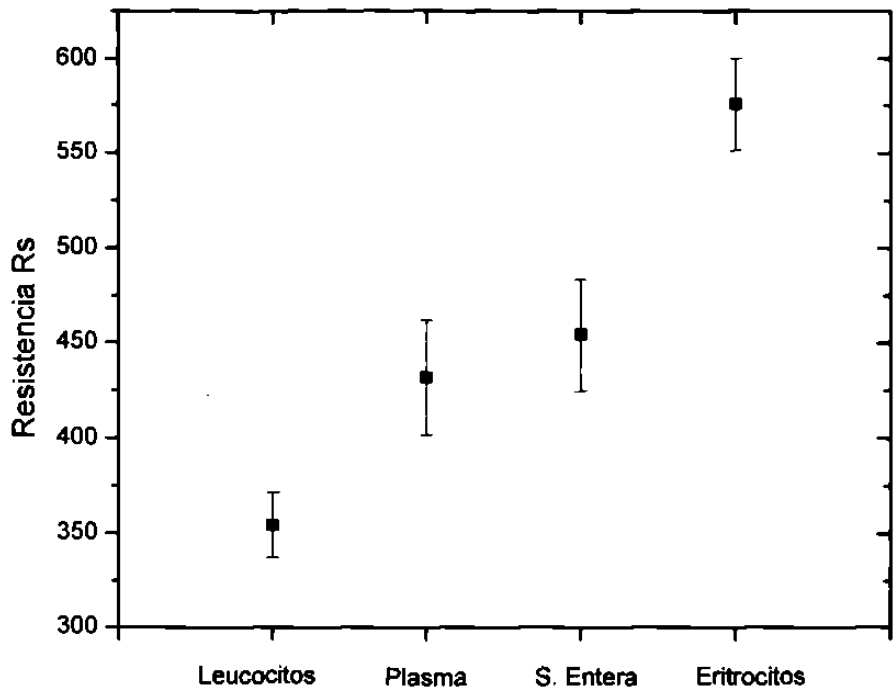

Figura 6.22 Correlación de los componentes de la sangre y sangre entera para el parámetro Rs.

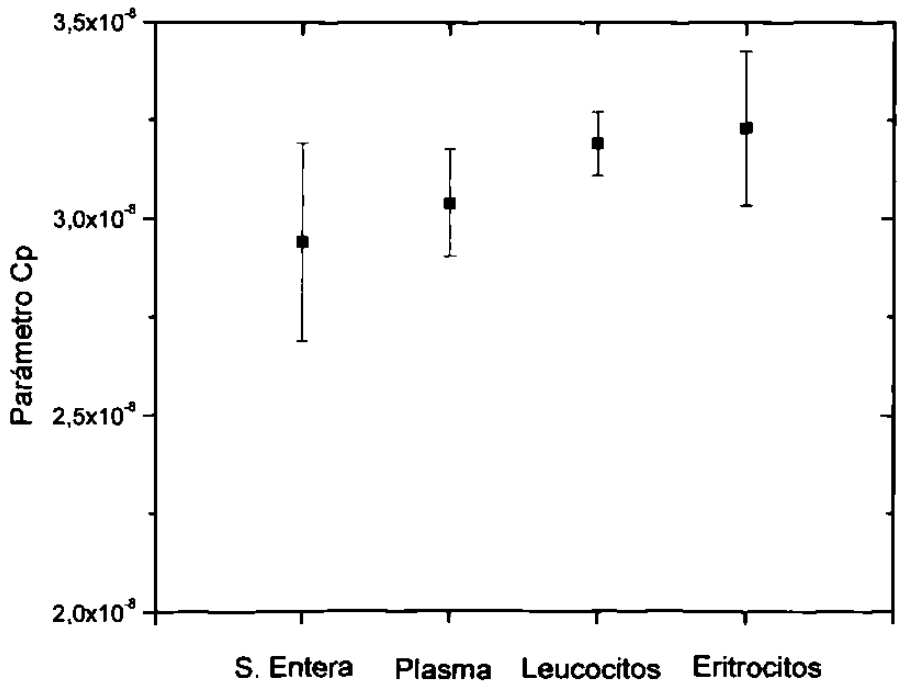

Figura 6.23 Correlación de los componentes de la sangre y sangre entera para el parámetro Cp.

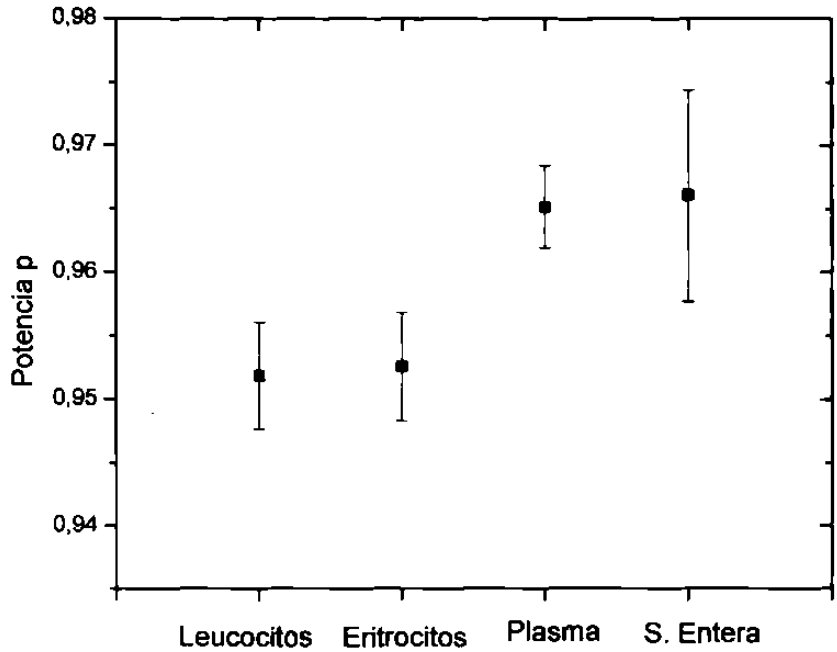

Figura 6.24 Correlación de los componentes de la sangre y sangre entera para el parámetro p.

De las gráficas anteriores se observa que la sangre entera puede presentar semejanza en sus propiedades eléctricas con un componente específico, por ejemplo, cuando se compara el valor de la resistencia en paralelo o bien la potencia p, en el eritrocito y la sangre entera pueden tenerse valores iguales, pero no así para los otros componentes. Cuando se compara la resistencia en serie el valor que toma en el plasma puede ser semejante al de la sangre entera. Si se mide el módulo de la impedancia total Z_{total}, puede resultar sin algún valor característico significativo para cualquier componente o sangre entera, por esto no es muy confiable, tomándose en cuenta las características de los elementos que lo conforman.

Muestras especiales

Una forma de saber si los parámetros eléctricos determinados para sangre entera así como de sus componentes principales (plasma, eritrocitos, y leucocitos) tienen alguna aplicación con valor de diagnóstico preliminar, se realizaron estudios con muestras tomadas de pacientes con alguna afección no contagiosa (sin riesgo en la parte experimental).

Muestras con anticuerpos al EDTA

Se analizaron varias muestras de sangre entera y de los componentes sanguíneos de una persona con reacción al anticoagulante EDTA. La persona generaba anticuerpos para el EDTA presentando una alta respuesta inmunológica, con esto el nivel de glóbulos blancos era elevado. Las gráficas de la figura 6.25 son una comparación entre sangre entera normal en color negro y la sangre entera con los anticuerpos en rojo.

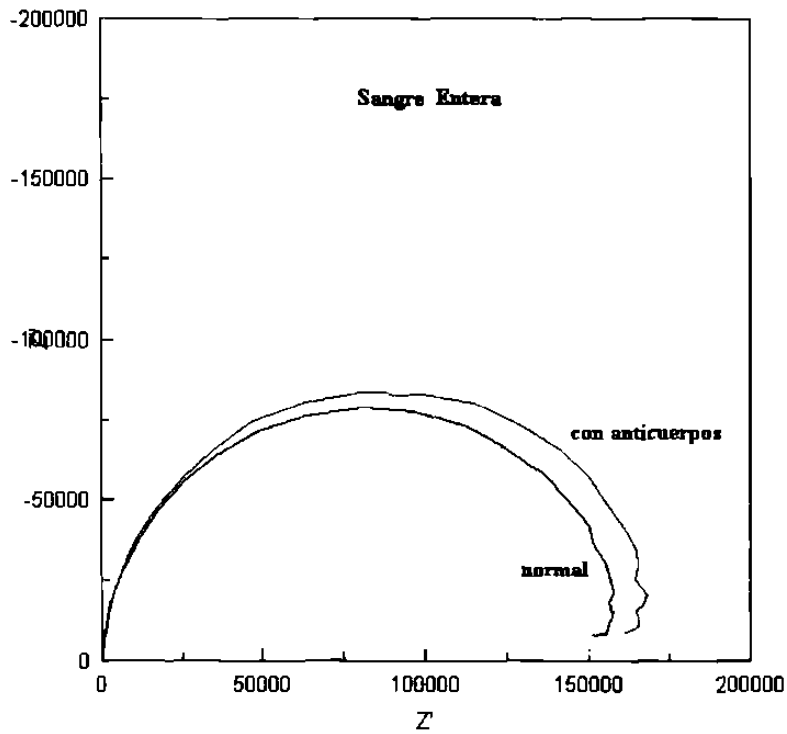

Figura 6.25 Comparación de las curvas de impedancia de sangre entera normal y sangre entera con reacción de anticuerpos al EDTA

Las curvas de la figura 6.25 no pueden compararse porque no hay una diferencia significativa, cuando consideramos los valores de los parámetros en la tabla 6.1 para sangre entera en las muestras con anticuerpos y los valores normales de la tabla 6.2 se observa que los datos de la muestra especial caen en el rango de los valores normales. Por lo tanto necesitamos hacer un estudio de los componentes para determinar una posible característica que nos permita percibir la anormalidad presentada en estas muestras.

Las gráficas de la figura 6.26 son una comparación entre los componentes de la sangre normal en color negro (eritrocitos, leucocitos y plasma), y los de la muestra con respuesta inmunológica en rojo.

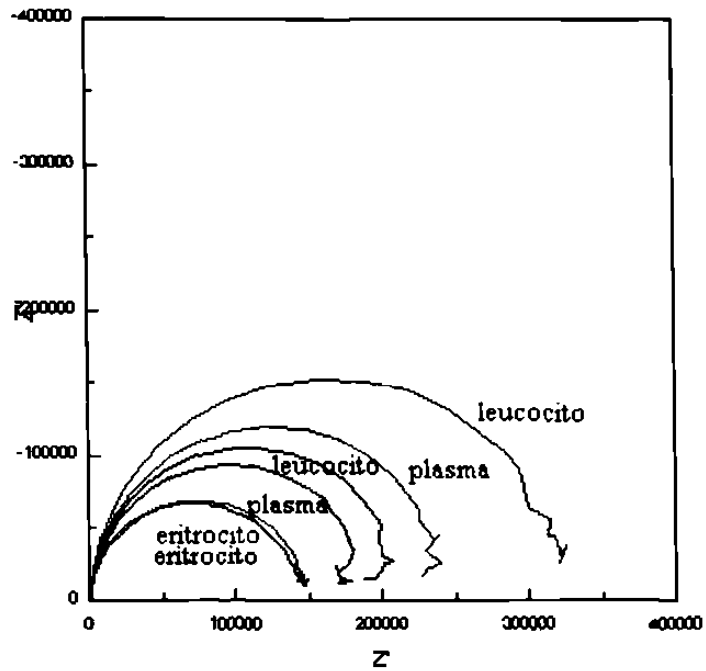

Figura 6.26 Comparación de las curvas de impedancia de los componentes de la sangre normal (color negro) y de los componentes de la sangre con anticuerpos al EDTA (color rojo).

Se aprecia notablemente el aumento en el radio de la curva para el plasma y los leucocitos, esto provoca un cambio en los valores de los parámetros eléctricos del modelo de Cole-Cole, debido a que en estos componentes se concentra la respuesta inmunológica, son un monitor para este tipo de afección. Fisiológicamente se tiene, por un lado el aumento en el número de células blancas y por otro lado como ya se mencionó en el capítulo II, hay un aumento en la cantidad de proteínas inmunológicas (inmunoglobulinas, citoquinas y proteínas de complemento) en el plasma debido a la respuesta inmunológica. La gráfica que corresponde al componente eritrocito es similar a la que presenta una persona apta para donación, esto se debe a que no se ve afectado significativamente este componente con la presencia de los anticuerpos. La comparación entre las gráficas de plasma y leucocitos evidencian una anormalidad en las muestras del paciente con anticuerpos al EDTA y los valores de los parámetros lo pueden confirmar.

El análisis de las curvas para las muestras de la persona con anticuerpos para EDTA proporciona los siguientes parámetros eléctricos:

Tabla 6.1 Muestras con anticuerpos para EDTA

Parámetro	Sangre entera	Leucocitos	Plasma	Eritrocitos
$\overline{R_P}$	$(177 \pm 1)K\Omega$	$(325 \pm 3.3)K\Omega$	$(254 \pm 2)K\Omega$	$(150 \pm 2)K\Omega$
$\overline{R_S}$	$467 \pm 12\Omega$	$384 \pm 3\Omega$	$391 \pm 3\Omega$	$486 \pm 5\Omega$
$\overline{C_P}$	$(2.99 \pm 0.03)x10^{-8}$	$(3.05 \pm 0.04)x10^{-8}$	$(3.12 \pm 0.04)x10^{-8}$	$(3.29 \pm 0.08)x10^{-8}$
$\overline{p}$	0.965 ± 0.001	0.962 ± 0.001	0.961 ± 0.001	0.954 ± 0.003

Tabla 6.2 Valores normales de los parámetros eléctricos para personas aptas a donación:

Parámetro	Sangre entera	Leucocitos	Plasma	Eritrocitos
$\overline{R_P}$	$(156 \pm 48)K\Omega$	$(219 \pm 11)K\Omega$	$(222 \pm 22)K\Omega$	$(134 \pm 17)K\Omega$
$\overline{R_S}$	$451 \pm 58\Omega$	$354 \pm 17\Omega$	$432 \pm 30\Omega$	$576 \pm 24\Omega$
$\overline{C_P}$	$(2.94 \pm 0.25)x10^{-8}$	$(3.19 \pm 0.01)x10^{-8}$	$(3.04 \pm 0.14)x10^{-8}$	$(3.23 \pm 0.19)x10^{-8}$
$\overline{p}$	0.966 ± 0.008	0.952 ± 0.002	$0.965 \pm .003$	0.952 ± 0.004

Como se puede apreciar en las tablas 6.1 y 6.2 el parámetro Rp tanto en leucocitos como en plasma cae fuera de los rangos establecidos anteriormente para la población de personas aptas a donación. En la gráfica 6.27 se percibe notablemente un aumento en el valor de Rp para leucocitos siendo lógico el resultado porque se tiene una densidad mayor de leucocitos que contribuyen a este valor. En el caso de plasma también se observa un ligero aumento en Rp que está fuera de los rangos normales. Sin embargo cuando se compara sangre entera o eritrocitos, los valores de los parámetros eléctricos están dentro de los valores normales.

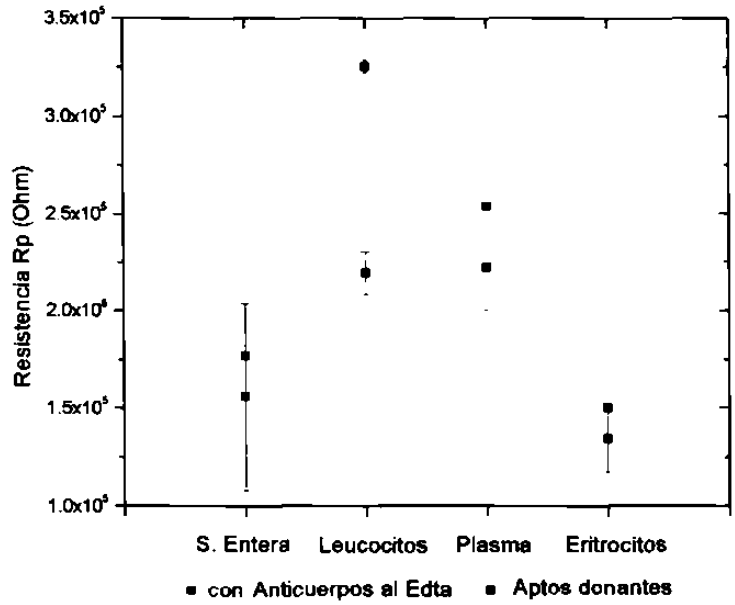

Figura 6.27 Gráfica comparativa de los valores del parámetro Rp para los componentes de la sangre y sangre entera de muestras aptas para donación (color negro) y de muestras con anticuerpos al EDTA (color rojo).

En la gráfica comparativa del parámetro Rs (figura 6.28) se tiene una disminución significativa para eritrocitos y moderada para plasma quedando el valor fuera de rango en ambos casos. En leucocitos y sangre entera el valor de Rs está dentro de los limites aceptables.

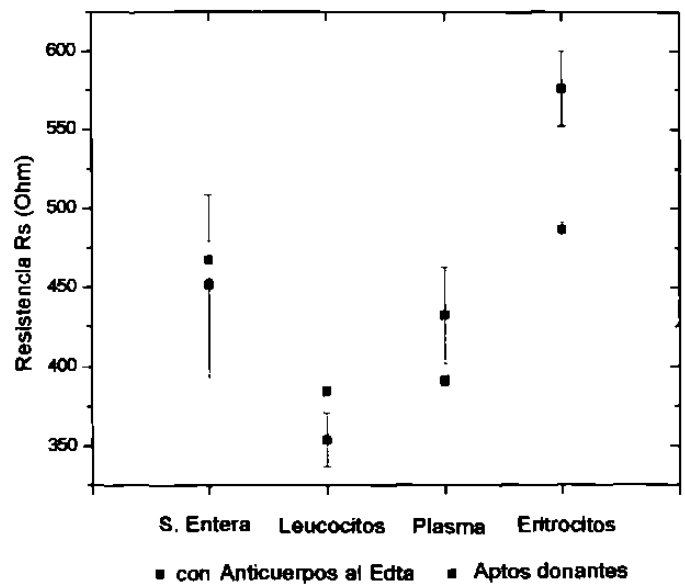

Figura 6.28 Gráfica comparativa de los valores del parámetro Rs para los componentes de la sangre y sangre entera de muestras aptas para donación (color negro) y de muestras con anticuerpos al EDTA (color rojo).

En la grafica comparativa del parámetro Cp (figura 6.29) y del parámetro p (figura 6.30) se muestra una vez más la diferencia clara en este valor cuando se comparan leucocitos normales y con los correspondientes a la respuesta inmunitaria.

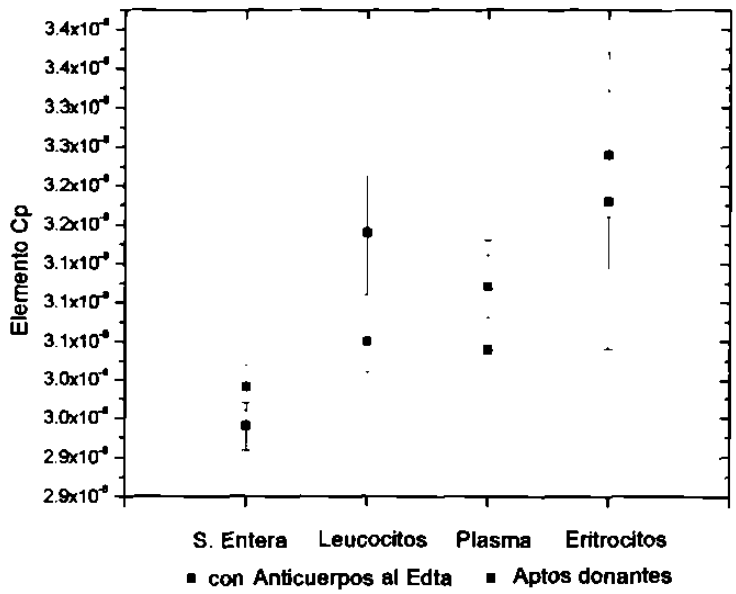

Figura 6.29 Gráfica comparativa de los valores del parámetro Cp para los componentes de la sangre y sangre entera de muestras aptas para donación (color negro) y de muestras con anticuerpos al EDTA (color rojo).

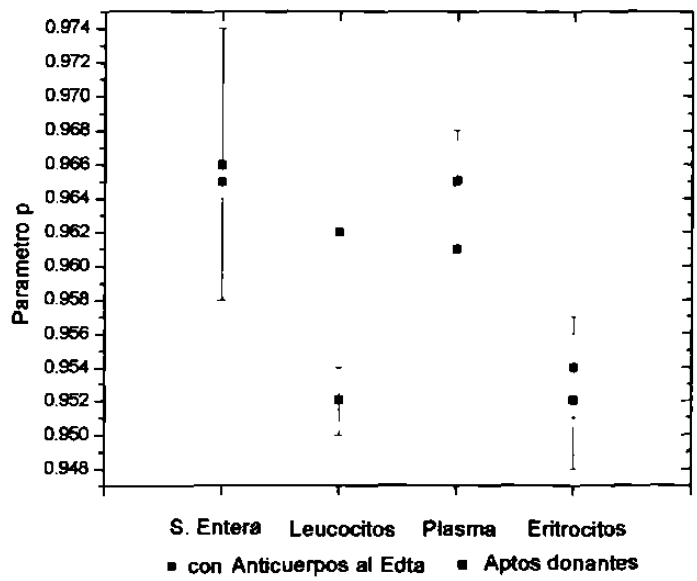

Figura 6.30 Gráfica comparativa de los valores del parámetro p para los componentes de la sangre y sangre entera de muestras aptas para donación (color negro) y de muestras con anticuerpos al EDTA (color rojo).

Muestras con leucemia

Se analizaron varias muestras de sangre entera y de los componentes sanguíneos (plasma y eritrocitos) de una persona con leucemia. La gráfica de la figura 6.31 hace una comparación entre sangre entera normal en color negro y la sangre entera con leucemia en rojo.

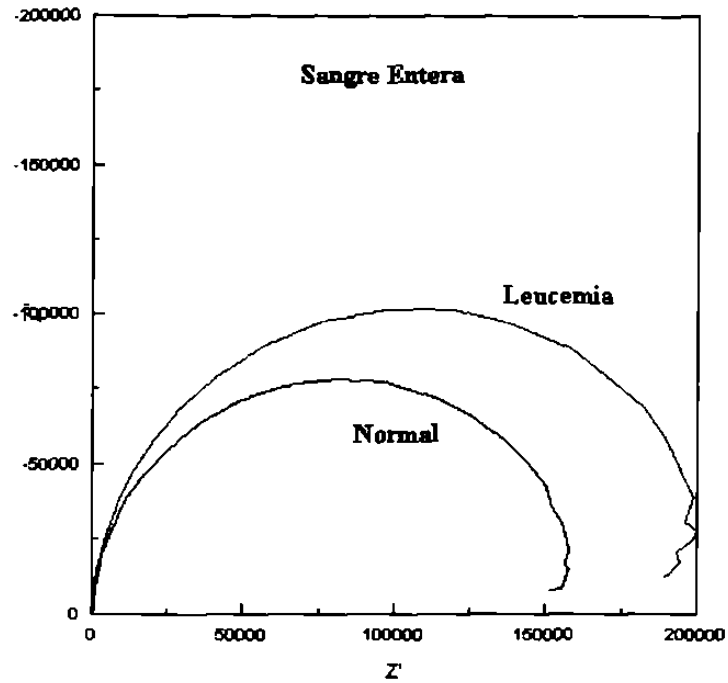

Figura 6.31 Comparación de las curvas de impedancia de sangre entera normal (color negro) y sangre entera con leucemia (color rojo).

Las curvas de la figura 6.31 pueden compararse porque hay una diferencia significativa, cuando consideramos los valores de los parámetros en la tabla 6.3 para sangre entera en las muestras con leucemia y los valores normales de la tabla 6.2, se observa que solo el valor Rp de la muestra especial cae fuera del rango normal. Aunque es posible considerar Rp para caracterizar una anormalidad de este tipo, un análisis más completo se puede hacer si se tienen los valores de los parámetros de cada componente.

La grafica de la figura 6.32 hace una comparación entre los componentes de la sangre normal en color negro (eritrocitos, leucocitos y plasma), y los de la muestra con leucemia en rojo.

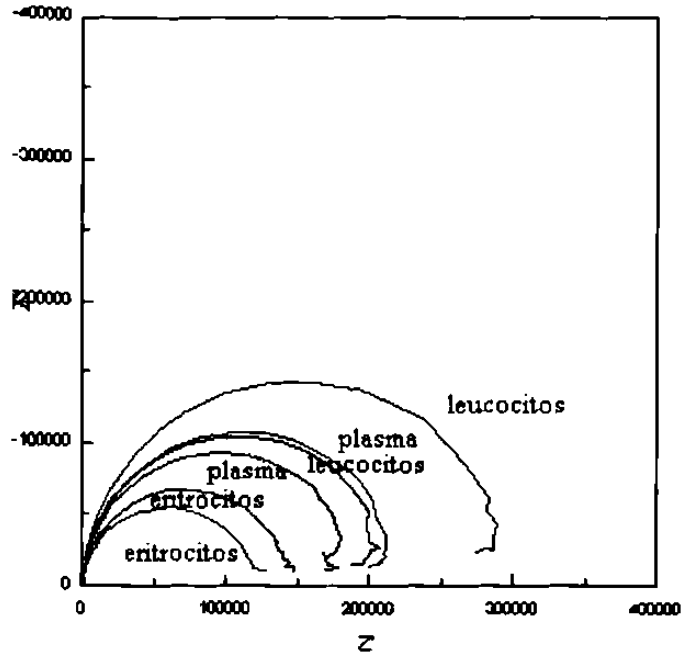

Figura 6.32 Comparación de las curvas de impedancia de los componentes de la sangre normal (color negro) y de los componentes de la sangre con leucemia (color rojo).

Este tipo de padecimiento se caracteriza por un aumento en la cantidad de leucocitos, conteo bajo de eritrocitos, bajo porcentaje de hematocrito y conteo bajo de plaquetas. En la grafica (figura 6.32) se observa nuevamente como el radio de las curvas de leucocitos y plasma aumenta, indicando una similitud con la respuesta inmunitaria analizada en el caso anterior, de hecho el aumento de los glóbulos blancos y proteínas inmunológicas es la característica similar. También se tiene una pequeña disminución en el radio de la curva de eritrocitos.

El análisis de las curvas para las muestras de la persona con leucemia proporciona los siguientes parámetros eléctricos:

Tabla 6.3 Muestras con leucemia

Parámetro	Sangre entera	Leucocitos	Plasma	Eritrocitos
$\overline{R_P}$	$(215 \pm 1)K\Omega$	$(298 \pm 9.7)K\Omega$	$(212 \pm 1)K\Omega$	$(115 \pm 1)K\Omega$
$\overline{R_S}$	$415 \pm 12\Omega$	$364 \pm 31\Omega$	$410 \pm 6\Omega$	$549 \pm 10\Omega$
$\overline{C_P}$	$(3.05 \pm 0.03)x10^{-8}$	$(3.19 \pm 0.08)x10^{-8}$	$(3.00 \pm 0.02)x10^{-8}$	$(3.27 \pm 0.03)x10^{-8}$
$\overline{p}$	0.967 ± 0.001	0.952 ± 0.004	0.966 ± 0.001	0.961 ± 0.001

Tabla 6.2 Valores normales de los parámetros eléctricos para personas aptas a donación:

Parámetro	Sangre entera	Leucocitos	Plasma	Eritrocitos
$\overline{R_P}$	$(156 \pm 48)K\Omega$	$(219 \pm 11)K\Omega$	$(222 \pm 22)K\Omega$	$(134 \pm 17)K\Omega$
$\overline{R_S}$	$451 \pm 58\Omega$	$354 \pm 17\Omega$	$432 \pm 30\Omega$	$576 \pm 24\Omega$
$\overline{C_P}$	$(2.94 \pm 0.25)x10^{-8}$	$(3.19 \pm 0.01)x10^{-8}$	$(3.04 \pm 0.14)x10^{-8}$	$(3.23 \pm 0.19)x10^{-8}$
$\overline{p}$	0.966 ± 0.008	0.952 ± 0.002	$0.965 \pm .003$	0.952 ± 0.004

Como se puede apreciar en las tablas 6.3 y 6.2 el parámetro Rp nuevamente resulta importante en la comparación entre los componentes sanguíneos para muestras normales y con alguna afección, de la gráfica 6.33 se observa que el valor de Rp para la muestra con leucemia cae fuera de los rangos establecidos anteriormente para la población de personas aptas para donación. En la grafica de la figura 6.33 se percibe notablemente un aumento en el valor de Rp para leucocitos, siendo lógico el resultado ya que se tiene una densidad mayor de leucocitos que contribuyen a este valor (capítulo III). En el caso de plasma también se observa un ligero aumento en Rp que está fuera de los rangos normales. Sin embargo cuando se compara sangre entera o eritrocitos, los valores de los parámetros eléctricos están dentro de los valores normales.

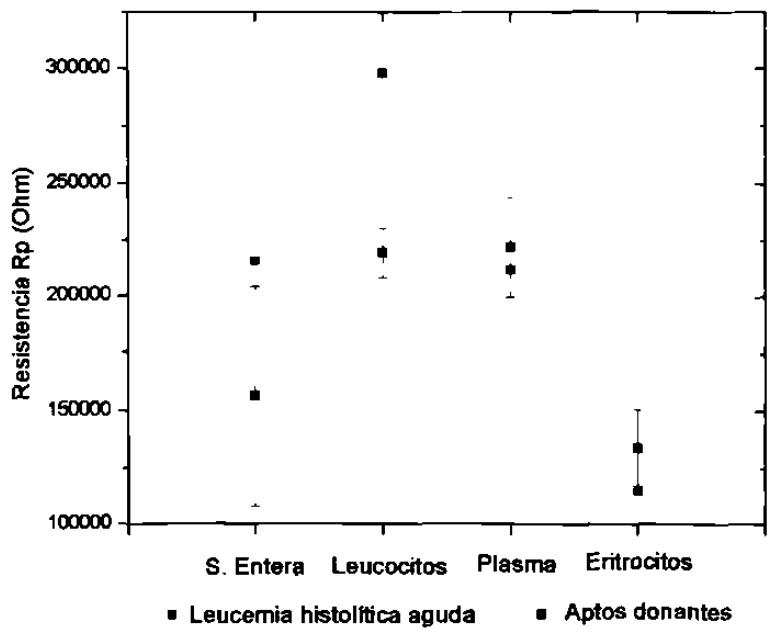

Figura 6.33 Gráfica comparativa de los valores del parámetro Rp para los componentes de la sangre y sangre entera de muestras aptas para donación (color negro) y de muestras con leucemia (color rojo).

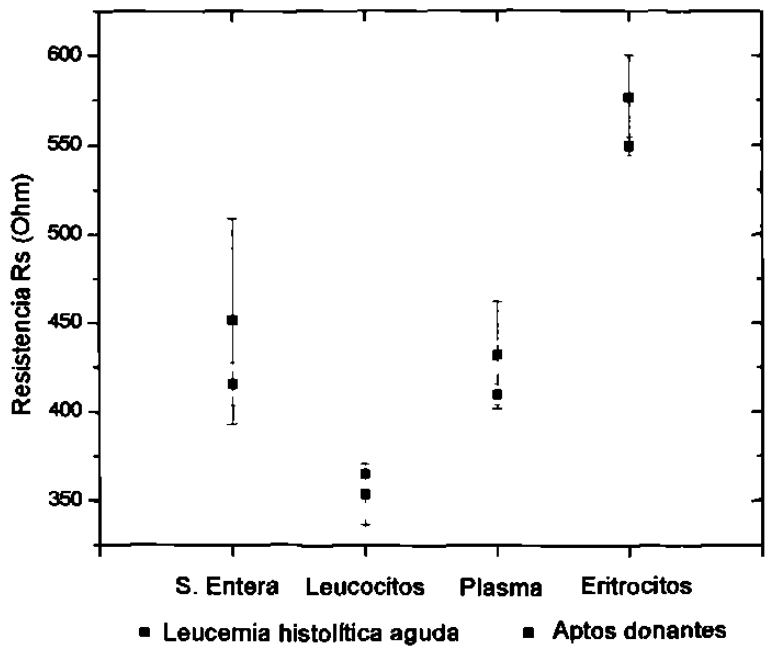

Figura 6.34 Gráfica comparativa de los valores del parámetro Rp para los componentes de la sangre y sangre entera de muestras aptas para donación (color negro) y de muestras con leucemia (color rojo).

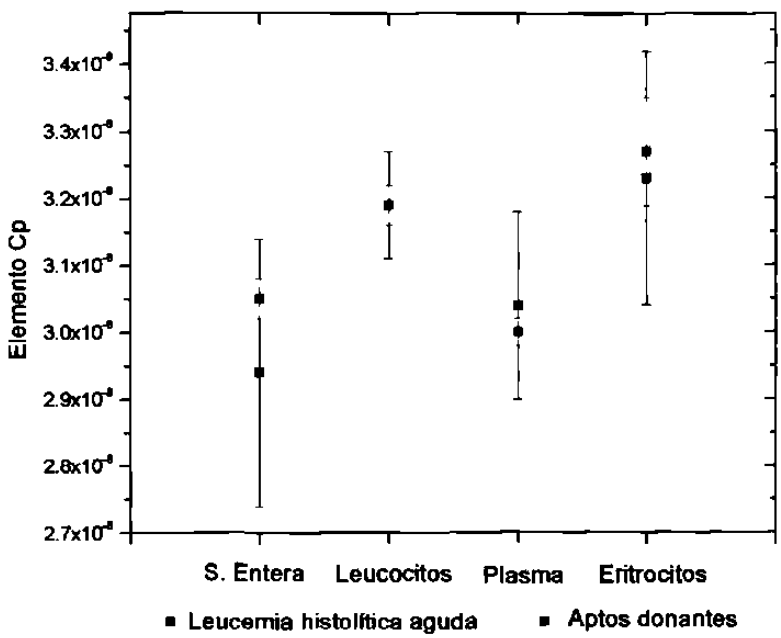

Figura 6.35 Gráfica comparativa de los valores del parámetro Rp para los componentes de la sangre y sangre entera de muestras aptas para donación (color negro) y de muestras con leucemia (color rojo).

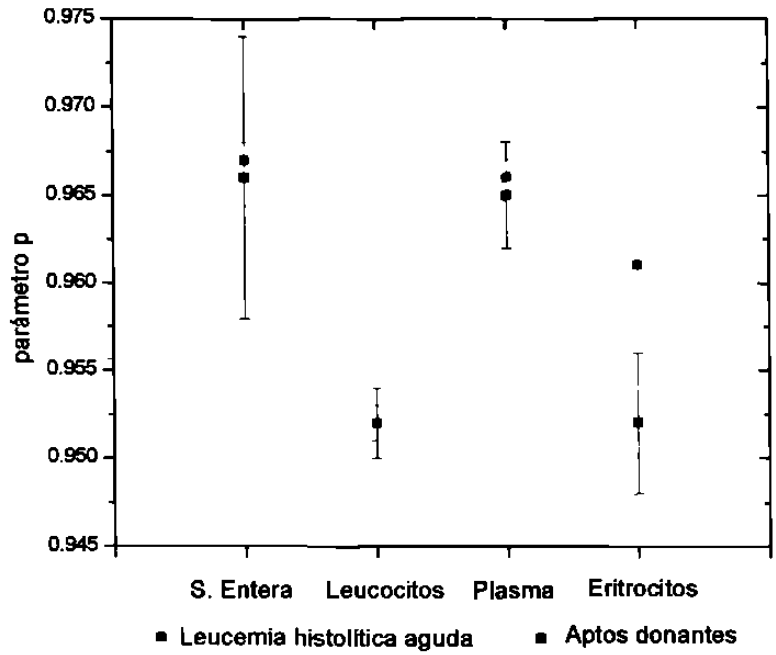

Figura 6.36 Gráfica comparativa de los valores del parámetro Rp para los componentes de la sangre y sangre entera de muestras aptas para donación (color negro) y de muestras con leucemia (color rojo).

Conclusiones del análisis realizado a las muestras especiales por la EI

El estudio preliminar del análisis realizado a muestras de pacientes con alguna anormalidad en el fluido sanguíneo permite establecer una comparación entre los parámetros eléctricos del modelo Cole-Cole y en base a esto poder distinguir que los parámetros que salen de rango muy posiblemente estén en relación directa con la afección. Existen dos parámetros que pueden ayudar a diferenciar en estos casos a muestras normales y muestras con un aumento en el numero de leucocitos, los valores de Rp y p en las graficas comparativas de las figuras 6.27, 6.30, 6.33 y 6.36 demuestran que no cumplen con los rangos obtenidos para personas aptas para donación (tabla 6.2)

Medición de los parámetros eléctricos vs. Temperatura

Se realizaron experimentos variando la temperatura para observar cuales eran los cambios en los parámetros eléctricos de sangre entera.

En la grafica de resistencia en paralelo vs. Temperatura se observa como disminuye exponencialmente a partir de los 21 grados Celsius y luego pasa por un estado meta estable, semejante al que se presenta cuando hay un cambio de fase. La grafica representa que a partir de una temperatura superior a los 37 grados Celsius la resistencia en paralelo empieza nuevamente a decrecer drásticamente.

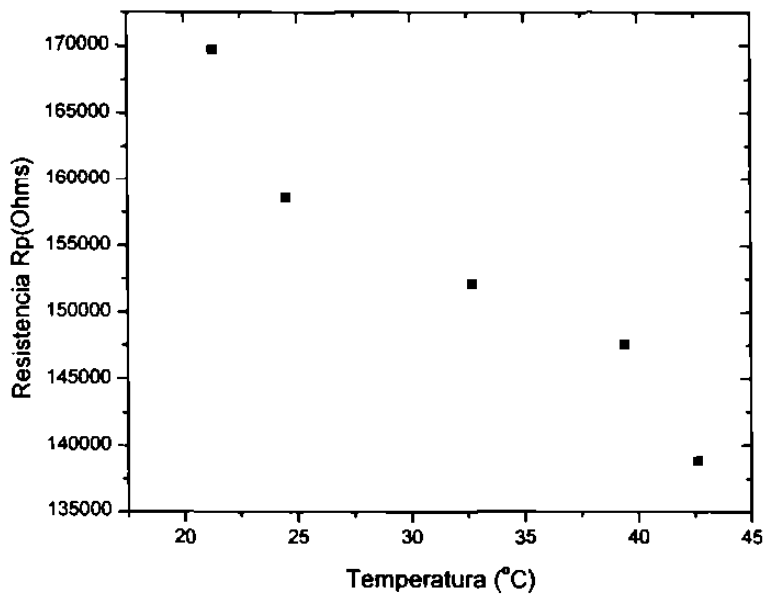

Figura 6.48 Comportamiento de Rp al modificar la temperatura de la muestra de 22 a 42 grados Celsius.

Es evidente que los parámetros del modelo eléctrico que representan al fluido cambian por efecto de la temperatura. La homeostasis tiene un papel fundamental en este proceso ya que los valores de resistencia en paralelo son estables para un rango de temperaturas entre 27 y 37 grados Celsius y además corresponden al valor obtenido en los estudios de EI para sangre entera:

$$\overline{R_P} = (156 \pm 22)K\Omega$$

Esto también nos proporciona un factor de confianza al saber que nuestro estudio se realizó dentro de los rangos de temperatura donde los valores son estables.

La grafica de la potencia (figura 6.49) parece ser la mas significativa en este experimento ya que muestra como el fluido en estudio empieza de ser un circuito eléctrico con un Cp que tiene una impedancia elevada a una potencia menor a la unidad, y evoluciona con la tendencia a convertirse en un capacitor ideal ya que su potencia tiende a uno rápidamente conforme aumenta la temperatura.

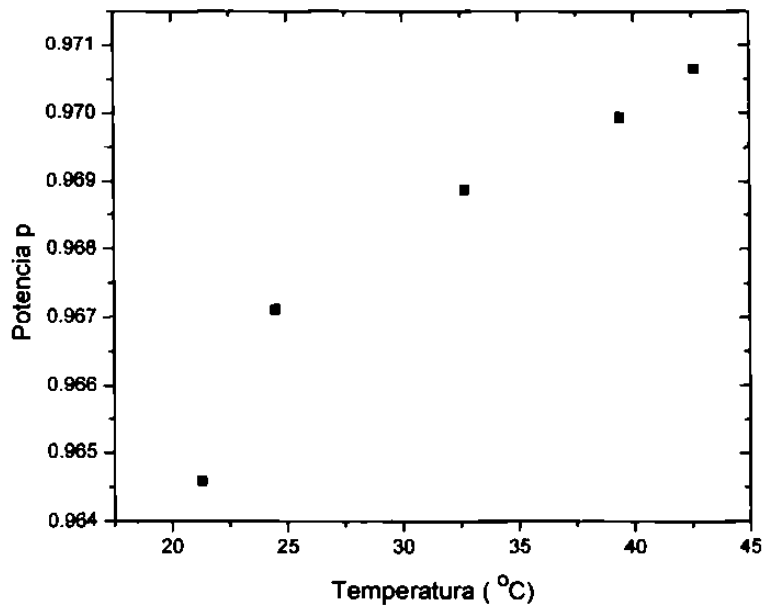

Figura 6.49 Comportamiento del parámetro p al modificar la temperatura de la muestra de 22 a 42 grados Celsius.

Por lo anterior las propiedades del capacitor son debidas a los electrolitos libres en el medio una vez que empieza la hemólisis. También en esta grafica se aprecia un estado metaestable del parámetro de potencia en el rango en donde lo presenta la resistencia en paralelo. Nuevamente esto representa un grado de confiabilidad de los valores obtenidos ya que fuera de el rango de temperaturas adecuadas los valores en los parámetros eléctricos empiezan a cambiar muy rápidamente con pequeñas variaciones en la temperatura, es importante remarcar que la sangre es uno de los tejidos mas especializados del cuerpo humano y sus rangos de trabajo (temperatura, pH, cantidad de gases disueltos, cantidad de glucosa, lípidos, etc) son extremadamente delicados. Cuando se trata de hacerse un estudio se deben mantener estos rangos para que los resultados sean de lo más confiables.

En el estudio para sangre entera se obtuvo:

$$\bar{p} = 0.966 \pm 0.003$$

La grafica del parámetro Cp vs. Temperatura revela que el Cp también se ve afectado significativamente después de los 40 grados Celsius, antes de esto los valores de Cp también caen en el rango obtenido para las muestras de sangre entera:

$$\overline{C_P} = (2.99 \pm 0.12)x10^{-8}F$$

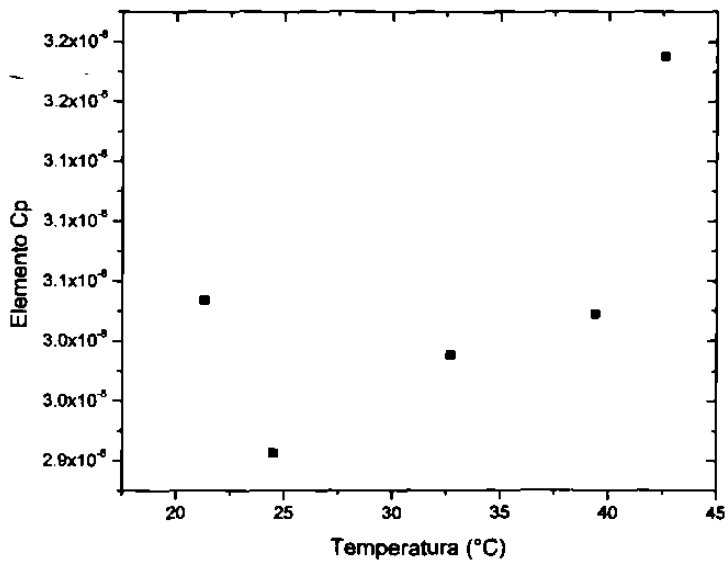

Figura 6.50 Comportamiento del parámetro Cp al modificar la temperatura de la muestra de 22 a 42 grados Celsius.

La búsqueda de nuevos métodos de diagnóstico en sangre

Las propiedades eléctricas de los tejidos y células en solución han sido de interés en el último siglo por muchas razones. Por ejemplo estas propiedades determinan las trayectorias de los flujos de corriente a través del cuerpo. En general la conductividad eléctrica de los biomateriales depende de su estado funcional y, por consiguiente, puede utilizarse como indicador para diagnóstico. Así por ejemplo, durante la inflamación (cuando las células se hinchan), disminuye la sección de las junturas intracelulares, aumentando la resistencia eléctrica[2]; los fenómenos fisiológicos que provocan la hidrólisis vienen acompañados con el aumento de conductividad eléctrica de la piel.

La investigación en el campo de la espectroscopía de impedancia eléctrica así como dieléctrica linear y no linear, para el estudio no invasivo de la química y de la enzimología de las membranas de células animales, resulta de mucha importancia para aumentar la comprensión de los procesos físico-químicos de células eucariotas simples (eritrocito humano) y complejas (célula animal). Esto proporcionará métodos mas completos y nuevos para estudiar la fisiología de la célula, abriendo el panorama en la parte de diagnóstico. Por ejemplo el monitoreo de la glucosa por medio del sistema no invasivo de la espectroscopía de impedancia eléctrica trabajando en el rango de frecuencias de 10^6 a 10^8 Hz por efecto de dispersión del campo electromagnético[1]. Los dispositivos diseñados para permitir a pacientes diabéticos inhalar, en vez de inyectan insulina, incorporan las tecnologías que se han desarrollado de los estudios dieléctricos entre enlaces proteicos por Schwan y Grant [1].

Actualmente está en desarrollo una nueva tecnología, llamada patología electrónica, en donde se describen objetivos que incluyen sustituir microscopía manual y manchas para detectar y para aislar las células anormales de los líquidos biológicos. Basados en estos mismos parámetros estructurales, la detección, la clasificación y el aislamiento de células patológicas, pueden ser alcanzados explotando sus características dieléctricas intrínsecas, utilizando arreglos de microeléctrodos que se energizan para imponer fuerzas dielectroforeticas ante las células.

Dependiendo de la frecuencia del campo eléctrico aplicado, las características dieléctricas de células reflejan diversos aspectos de sus características estructurales, esto se debe a la dispersión dieléctrica que presentan cada una de las estructuras que componen a la célula (ver capitulo III). El siguiente esquema resume lo anterior.

PATOLOGÍA ELECTRÓNICA
Las Características Dieléctricas Reflejan La Estructura De la Célula

Morfología de la membrana
(dobleces, microvellosidades,
Integridad de la membrana)

Carga superficial de la membrana	Forma y tamaño celular	Razón de Volumen
Canales iónicos	Citoesqueleto	Núcleo / Citoplasma

Frecuencia

Bajas Frecuencias — *Ondas de Radio* — *Micro-ondas* →

Caracterización de tejidos cancerosos

Es conocido que la morfología de los tejidos cancerosos es diferente a la de los tejidos sanos. Este hecho da pie a pensar que la espectroscopía de impedancia eléctrica puede ser una herramienta útil en la caracterización de estos tejidos, ya que estas diferencias pueden inducir cambios en sus propiedades eléctricas. En la bibliografía se pueden encuentran trabajos que hacen referencia al estudio, mediante medidas tanto in-vitro como in-vivo, de la detección de tumores, haciendo hincapié, sobre todo, en el estudio del cáncer de mama, al ser ésta una aplicación clínica potencialmente muy importante.

La tendencia en los últimos trabajos presentados sobre el tema es el empleo, no sólo de la variación del módulo de la impedancia, sino también del estudio de la evolución de la fase o de los dos comportamientos mediante la modelización con arcos de Cole-Cole. Jossinet[4] en 1985 comprobó que el espectro de fase es una herramienta más significativa que la variación del módulo para realizar su caracterización. Desde 1992, muchos son los trabajos presentados sobre el tema[5,6,7], que utilizan la parametrización de Cole-Cole en la caracterización y diferenciación de los tejidos cancerosos, llegando a la conclusión, que dichos parámetros permiten su diferenciación respecto a los tejidos normales.

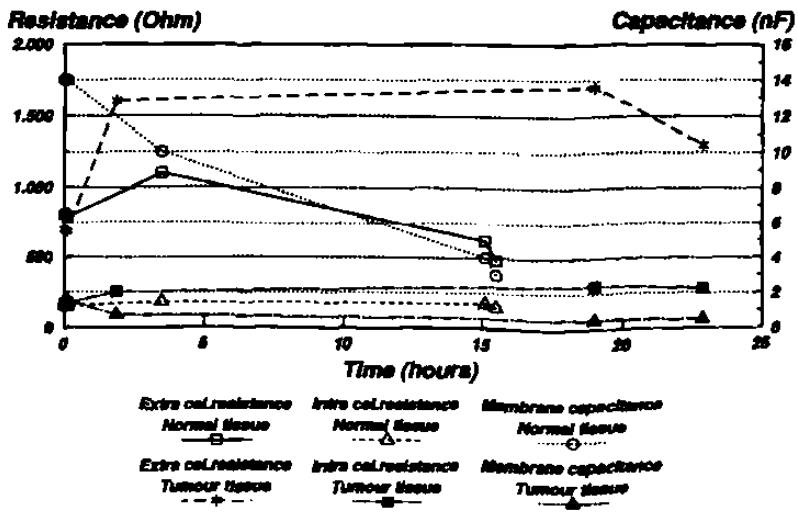

Figura 6.70 Evolución temporal de los parámetros eléctricos del modelo Cole-Cole en tejido normal y tumoral.

La gráfica anterior (figura 6.70) muestra la diferenciación paramétrica (Rp y Cp) del tejido normal y tumoral[6]. El paso a la caracterización de los tumores mediante medidas in-vivo es dificultoso, siendo complicado controlar que la medida se realice sólo sobre el volumen ocupado por el tumor, ya que para que la medida tenga utilidad desde el punto de vista de prevención, el tamaño del tumor ha de ser aún reducido. Además en Chaveau[8] et al., 1995 se presentan las limitaciones existentes para conseguir una buena reproducibilidad en las medias. Al igual que en las medidas in-vitro, es la modelización de Cole, la herramienta más utilizada en los últimos trabajos presentados para su caracterización.

Caracterización del nivel de isquemia en tejidos

El primer grupo que presentó la espectroscopia de impedancia eléctrica como una técnica capaz de cuantificar el nivel de isquemia fue de la universidad de Göttingen. Sus trabajos empezaron en la década de los 80, con la caracterización in-vitro de la isquemia del tejido miocárdico[9,10,11]. Ya en la década de los 90, extendieron al uso de la espectroscopia de impedancias a la caracterización del tejido hepático[12]. En sus medidas, realizadas en el dominio de frecuencia de 0.1 Hz a 10 MHz, sobre corazón canino e hígado porcino, se demostró la correlación existente entre los cambios en el nivel de impedancia y el grado de isquemia. En estos trabajos no se presenta tan sólo las modificaciones que sufre el espectro de frecuencia en su evolución temporal sino también posibles modelos eléctricos que ayudan a la comprensión de los procesos fisiológicos que inducen estos cambios.

En los últimos años, otros grupos se han incorporado al estudio de este tema con diferentes contribuciones. R. Bragós[13] ha estudiado el miocardio de un modelo porcino, caracterizando y modelando espectralmente la evolución temporal de la isquemia, concluyendo que la fase es la magnitud más robusta para su caracterización. También se ha caracterizado otros tejidos, como el muscular, estudiando la evolución de su isquemia[14] para su aplicabilidad en cirugía estética y reparadora o su comportamiento frente a los diferentes niveles de radiación que puede sufrir en un tratamiento de radioterapia[15].

La recopilación bibliográfica de medidas experimentales sobre tejidos nos muestra la necesidad de completarla mediante un estudio que conlleve la realización de medidas in vivo e in-situ que nos permitan caracterizar los diferentes tejidos y su evolución isquémica, para obtener información acerca de los márgenes que podemos encontrarnos en sus valores de impedancia o en los parámetros que les caracterizan.

La caracterización de los parámetros dieléctricos naturales de células pueden conducir a una comprensión mejor de la estructura y de la función celulares.

Proteínas

Los análisis estructurales y teóricos de proteínas son centrales a la comprensión de mecanismos moleculares complejos y son fundamentales al proceso del descubrimiento de nuevos medicamentos. El papel central de interacciones electrostáticas con respecto a la función, a la estructura y a la estabilidad de la proteína se han investigado y algunas características electrostáticas se pueden modelar teóricamente.

Aunque en la coagulación de la sangre están implícitas más de 30 proteínas que trabajan específica y recíprocamente con varios grados de afinidad, la regulación y el impacto de mutaciones en este proceso requieren el desarrollo de nuevas terapias y de herramientas de diagnóstico para comprensión fundamental de mecanismos moleculares y del plegamiento de proteínas.

Otra importante proteína es la Albúmina, que es el 50-60 % del total de la proteína plasmática, que su carga eléctrica negativa le capacita como un gran transportador de inespecífico de hormonas, iones, fármacos,

Bibliografía

[1] Polk, Postow, Handbook of Biological Effects of Electromagnetic Fields, Ed. CRC Press, N.Y., 1998

[2] Remizov, Física Médica y Biología, Ed. MIR, Moscú,

[3] Francis A. Duck, Physical properties of tissue A comprehensive reference book, Ed. Academic Press limited, 1990. London, U.K

[4] Jossinet J., Lobel A., Michoulet C., J. Schmitt M., Biomed. Eng., Vol. 7, pp. 289-294, 1985, Quantitative technique for bioelectrical spectroscopy

[5] McRae D. A., Esrick M. A., Phys. Med. Biol., Vol. 37, pp. 2045-2058, 1992, The dielectric parameters of excised EMT-6 tumours and their change during hyperthermia.

[6] Blad, B., Baldetorp B., Physiological Measurement , Vol. 17, Suppl. 4, pp. A105-A115, 1996, Impedance spectra of tumor tissue in comparison with normal tissue, a posible clinical application for electrical impedance tomography.

[7] Heintz J., Minet O., Proc. Of IX International Conference on Electrical Bioimpedance, Heidelberg. Alemania, pp. 356-359, 1995, Dielectric properties of female breast tumours

[8] Chauveau, N. Dumont P., Aligne C., Rigaud B., Cros S., Morucci J. P., Proc. Of IX International Conference on Electrical Bioimpedance, Heidelberg. Alemania, pp. 215 – 219, 1995, In vivo impedance spectrometry of MCF-7 tumors in nude mice: Measurement problems and examples.

[9] Gersing E., Preusse C. J., Gebhard M. M., Bretschneider H. J. Pflügers Arch. Ges. Physiol. Europ. J. Physiol., p. 381, R2, 1981, Use of electric impedance spectroscopy for survives of the myocardial ischemic stress.

[10] Preusse c. J., Gersing E., Gebherd M. M., Ponizy A., Schnabel A., Bretschneider H.J. Thorac. Cardiovasc. Surg., Vol. 30 (special issue), p. 18, 1982, Intraoperative atraumatic monitoring of myocardial revivability by continuous or intermittent measurament of electrical impedance of the Herat

[11] Schnabel A., Gebhard M. M., Gersing E., Preusse L. J., Ulbritcht Th., Pomykaj J., Tichter J., Schwartz P., Speickermann B., Bretschneider H. J., Evaluation of alterations in

ischemically stressed myocardium by electron microscopy and electric impedance spectroscopy.
[12] Gersing E., Hoffmann B., Hehrer G., Pottel R., Innovation and Technology in Biology and Medicine, Vol. 16, No. 6, pp. 672-678, 1995, Modelling based on tissue structure – The example of porcine liver.
[13] Bragós R. Tesis doctoral.Universitat Politècnica de Catalunya. Barcelona.1997, Contribució a la caracterització de teixits i sistemes Biològics mitjançant tècniques d'espectrocopia d'impedància elèctrica.
[14] Ristic B., Kun S., Peura R. A., Proc. XIX International Conference –IEEE/EMBS, Chicago, pp. 2108-2111, 1997, Muscle tissue ischemia monitoring using impedance spectroscopy: Quantitative results of animal studies.
[15] Osterman K. S., Paulsen K. D., Hoopes P. J., Hartov A., Jones S. B., Proc. X International Conference on Electrical Bioimpedance, Barcelona, pp. 41-44, 1998, Application of linear circuit models to impedance spectra in irradiated muscle

Apéndice A
Dieléctricos

Dieléctricos en un campo eléctrico externo

El término dieléctrico para los materiales lo introdujo Michael Faraday para designar las sustancias a través de las cuales penetran los campos eléctricos, a diferencia de los metales en cuyo interior no hay campo electroestático. En general se denomina material dieléctrico a los cuerpos que no conducen corriente eléctrica en condiciones normales, sin embargo cuando se cambian las condiciones externas (calentamiento, campo eléctrico, radiactividad, etc.) el dieléctrico puede conducir una corriente eléctrica. De hecho el cambio del estado del dieléctrico al colocarlo en un campo eléctrico se puede explicar por su estructura molecular, según la cual los materiales dieléctricos pueden clasificarse en tres clases:

1.- Dieléctricos con moléculas polares
2.- Dieléctricos con moléculas no polares
3.- Dieléctricos cristalinos

Brevemente analizaremos cada una de estas clases

Dieléctricos con moléculas polares

las sustancias como el agua, nitrobenceno y muchos ácidos tienen estructura molecular asimétrica, entonces los centros de masa de sus cargas positiva y negativa no coinciden, por lo cual poseen una separación de estas cargas, este comportamiento produce que sean polares y se dice que tienen un momento bipolar eléctrico que las caracteriza ($p = q\ l$), incluso sin campo eléctrico externo posee polarización en sus moléculas pero no están orientadas preferentemente (la sustancia no esta polarizada, solo sus moléculas). Cuando se aplica un campo eléctrico externo se observa como las moléculas se orientan y entonces se polariza toda la sustancia, aunque en la realidad la polarización no es total debido al movimiento térmico-molecular.

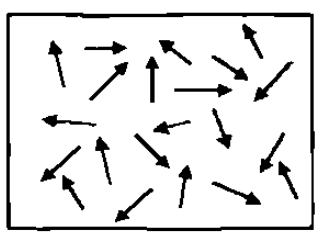

Figura A.1 En ausencia del campo eléctrico externo los momentos dipolares de las moléculas tienen orientación caótica y la suma vectorial de los momentos bipolares de todas las N moléculas es igual a cero

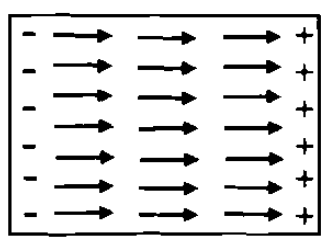

Figura A.2 Si el dieléctrico se coloca en un capo externo la alineación de los momentos dipolares no son totales por lo tanto la polarización total es menor a la ideal

Dieléctricos con moléculas no polares

A este grupo de dieléctricos pertenecen las sustancias cuyas moléculas, en ausencia del campo eléctrico, no poseen momentos dipolares (H_2, O_2, etc.), estas moléculas son simétricas, sin embargo cuando se someten a un campo eléctrico externo las cargas de diferente signo se desplazan en sentidos contrarios y la molécula adquiere un momento bipolar eléctrico de intensidad dependiente del campo aplicado.

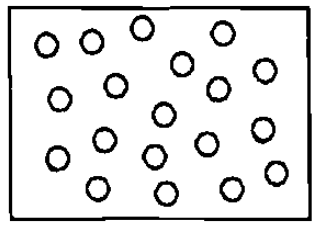

Figura A.3 Moléculas no polares en ausencia de campo eléctrico

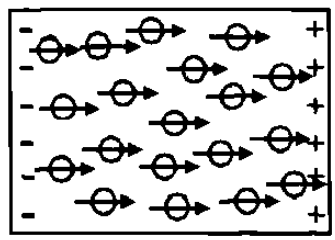

Figura A.4 Moléculas no polares en un campo eléctrico

Dieléctricos cristalinos

Son generalmente sales cristalinas cuyas redes se componen de iones positivos y negativos (por ejemplo: NaCl). El dieléctrico de este tipo se puede considerar como un conjunto de dos subredes una de las cuales lleva una carga positiva, y la otra negativa. En ausencia del campo eléctrico externo las subredes están dispuestas simétricamente y el momento bipolar eléctrico es cero. Si el dieléctrico se coloca en un campo eléctrico, las subredes se desplazaran en sentidos opuestos, y el dieléctrico adquirirá polarización.

La primera clase de dieléctricos es conocida como polarización dipolar o de orientación, para la segunda clase se llama polarización electrónica (o sea el desplazamiento de los electrones) y la tercera clase se conoce como polarización iónica. Estos tres procesos son una clasificación convencional, puesto que en un dieléctrico real pueden existir simultáneamente todos los tipos de polarización, por esta razón la medida de la polarización total de un material en presencia de un campo eléctrico unifica todos los procesos involucrados.

Dieléctricos biológicos

El estudio de las propiedades dieléctricas de materiales biológicos sigue siendo de gran interés. Al aplicar un campo eléctrico a cierto tejido (o a un sistema celular, molecular, etc.), la respuesta del tejido se nota en la permitividad eléctrica ε (densidad de carga) y en la conductividad σ (densidad de corriente). La respuesta de un material a un voltaje involucra el desplazamiento de carga y la cinética de este desplazamiento determina la dependencia a la frecuencia de la muestra. Algunos investigadores[1] mencionan que la respuesta a este estímulo pudiera deberse a efectos del tipo de *resonancia* ya que estos han observado efectos de este tipo (en particular en soluciones de DNA a frecuencias menores a los GHz); mientras que otros defienden la idea de una *relajación natural*, donde los efectos pueden ser descritos mediante una ecuación diferencial de primer orden; la discrepancia parece dar la razón a la relajación natural, ya que ese fenómeno de resonancia no ha sido confirmado por trabajos subsecuentes[1]. Un ejemplo de la relajación natural para un caso simple de polarización es presentado por la ecuación:

$$\mathbf{D = D_\alpha + (Do - D_\alpha)(1-e^{t/\tau})}$$

Donde D es la densidad de carga, D_α es la respuesta instantánea del sistema (en un proceso muy rápido), Do es la respuesta a un tiempo después de la aplicación de un estímulo al sistema. La constante de tiempo α depende del proceso físico involucrado: esta puede ser corta (de algunos picosegundos para dipolos moleculares reorientados) o larga (en el orden de segundos). El comportamiento de relajación dieléctrica puede ser convenientemente graficado sobre un plano complejo. Pueden ser empleadas diferentes gráficas para enfatizar los diferentes aspectos del comportamiento de relajación. A la frecuencia de relajación o frecuencia característica (fc) la permitividad es la mitad entre los valores de las bajas y altas frecuencias; y es este valor el que determina el ápex del arco circular en las diferentes gráficas. De los métodos gráficos más empleados está el propuesto por Cole y Cole[1].

Varios son los fenómenos que se presentan al aplicarse un campo eléctrico a un tejido, el llamado *mecanismo de relajación dieléctrica* es el más importante. Son tres los procesos que involucra la relajación dieléctrica en tejidos: ***polarización interfacial, orientación bipolar y difusión iónica.***

Polarización interfacial. Si un material es eléctricamente heterogéneo, ocurre dispersión en las propiedades del material desde la carga hasta la interfase dentro del material. Este fenómeno no se presenta desde la relajación dieléctrica en la fase del material, pero es una consecuencia de las condiciones de frontera en los campos a la interfase entre fases. Estos efectos dominan en las propiedades dieléctricas de coloides y emulsiones.

Relajación bipolar. Este mecanismo es la orientación de dipolos.

Difusión iónica. Este mecanismo se presenta cuando dos superficies adyacentes se encuentran cargadas. La constante de tiempo para tales efectos es de la forma L^2/D, donde L es una longitud sobre la cual ocurre la difusión y D es un coeficiente de difusión (en contraste con los efectos de Maxwell-Wagner[1], donde la constante de tiempo es de la

forma RC ó $\varepsilon\varepsilon_0/\sigma$, donde R($1/\sigma$ -conductividad-) es una resistencia y C ($\varepsilon\varepsilon_0$-permitividad del materia y del vacío respectivamente-) representa la capacitancia. Este mecanismo es comúnmente dominante en sistemas biológicos a bajas frecuencias (por debajo de los KHz) mientras que los efectos Maxwell-Wagner son dominantes en el rango de las radiofrecuencias.

Estos mecanismos de relajación son los que se consideran para tener el desplazamiento de cargas, y es esta propiedad física aprovechada en la EI para hacer el análisis en la caracterización de sus propiedades eléctricas. Puesto que se obtiene el comportamiento en un rango de frecuencias del valor de la impedancia Z, la cual está relacionada con la frecuencia en un sistema biológico; las propiedades de conductividad y capacitivas de la muestra son obtenidas mediante el análisis de los datos.

Comportamiento en frecuencia: polarización y relajaciones en materiales dieléctricos

La propiedad más importante de los dieléctricos es la capacidad de polarizarse bajo la acción de un campo eléctrico exterior. Este fenómeno consiste en la variación de la posición en el espacio de las partículas eléctricamente cargadas, adquiriendo por tanto el dieléctrico un momento eléctrico. La polarización (P) coincide con la densidad superficial de cargas ligadas en el dieléctrico, siendo su relación con el campo (E) e inducción eléctrica (D) la siguiente:

$$\underset{\sim}{\mathbf{D}} = \varepsilon_0 \underset{\sim}{\mathbf{E}} + \underset{\sim}{\mathbf{P}} = \varepsilon \underset{\sim}{\mathbf{E}}$$

Como indica esta ecuación, hay una relación directa entre la polarización del dieléctrico y la variación de la permitividad del mismo. Existe, por tanto, una relación entre la expresión del cambio de la polarización y la de la permitividad ante una excitación senoidal de frecuencia ω. En las siguientes ecuaciones modelan este comportamiento[2].

$$P^*(\omega) = P_\infty + \frac{P_s - P_\infty}{1 + j\omega\tau}$$

$$\varepsilon^*(\omega) = \varepsilon_\infty + \frac{\varepsilon_s - \varepsilon_\infty}{1 + j\omega\tau}$$

En ellas es, ε_s, P_s y ε_∞, P_∞ son respectivamente la permitividad y polarización en continua y a frecuencia infinita y τ el tiempo de relajación. En este modelo se ha hecho la aproximación de dieléctrico perfecto. Si éste no lo fuera, existiendo corrientes de conducción para $\omega = 0$, es necesario añadir al modelo el efecto de la conductividad estática σ_s, quedando la expresión completa:

$$\varepsilon^* = \varepsilon_\infty + \frac{\varepsilon_s - \varepsilon_\infty}{1 + j\omega\tau} - \frac{j\sigma_s}{\omega\varepsilon_0}$$

Siendo su representación, mediante diagramas de Bode y Nyquist, la que se muestra en la

Figura. Este desarrollo es idéntico para la expresión de la conductividad compleja, llegándose a la ecuación

$$\sigma^* = j\omega\varepsilon_0\varepsilon^* = \sigma_\infty + \frac{\sigma_s - \sigma_\infty}{1 + j\omega\tau} + j\omega\varepsilon_0\varepsilon_\infty$$

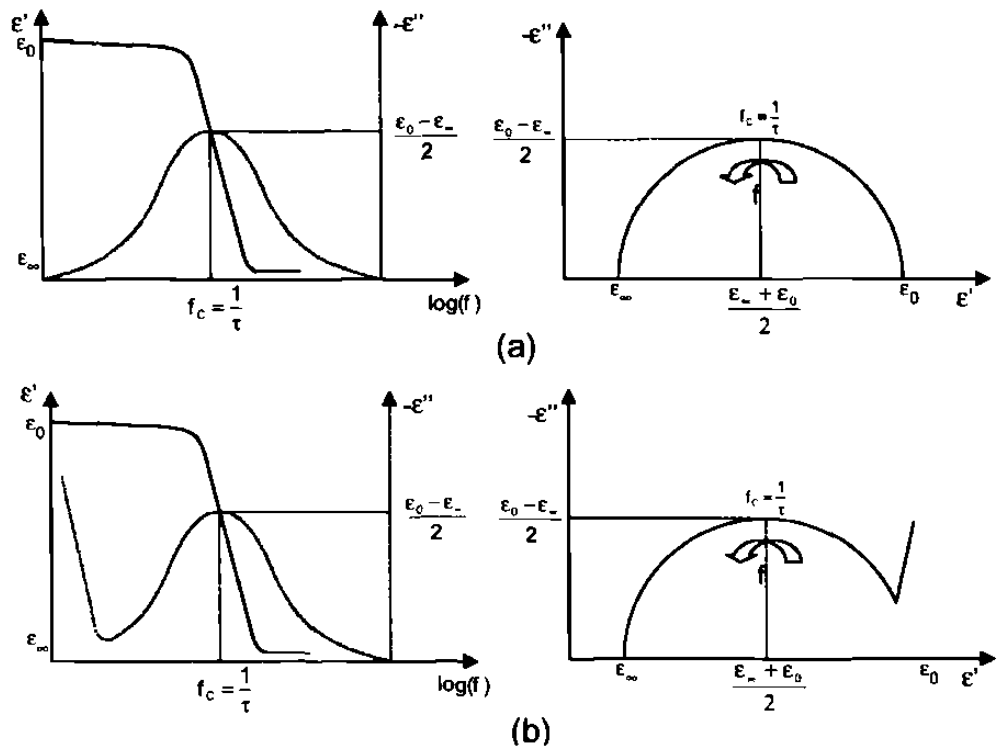

Figura A.5 Representaciones de la ecuación de Debye: (a) Diagramas de Bode y Nyquist para un dieléctrico perfecto y (b) considerando las pérdidas por corrientes de conducción.

En general, no existe un único mecanismo de relajación. En una primera aproximación se puede considerar que si el dieléctrico tiene más de una constante de relajación y éstas están suficientemente separadas, $\tau_1 << \tau_2 << \tau_3$, respondiendo todas ellas a un comportamiento de primer orden, la permitividad se puede modelar con la expresión:

$$\varepsilon^*(\omega) = \varepsilon_\infty - \frac{j\sigma_s}{\omega\varepsilon_0} + \frac{\Delta\varepsilon_1}{1 + \omega\tau_1} + \frac{\Delta\varepsilon_2}{1 + \omega\tau_2} + \frac{\Delta\varepsilon_3}{1 + \omega\tau_3} + \ldots = \varepsilon' + j\varepsilon''$$

Si estas constantes de tiempo no están suficientemente separadas, y vienen dadas por dispersiones dentro del mismo mecanismo que produce una determinada relajación, se tendrá una relajación dieléctrica más ancha, que cumplirá la expresión siguiente[3].

$$\varepsilon^* = \varepsilon_\infty + (\varepsilon_s - \varepsilon_\infty)\int_0^\infty \frac{\rho(\tau)}{1 + j\omega\tau} d\tau$$

Donde ρ(t) es la función de distribución normalizada de las constantes de tiempo.

Esta expresión permite describir cualquier dieléctrico, en ausencia de fenómenos de resonancia y suponiendo un comportamiento lineal. El problema es, para cada caso, encontrar la función de distribución adecuada. Se puede pensar en hallar una función que responda a los mecanismos físicos que se producen en el dieléctrico, pero este planteamiento acostumbra a dar soluciones matemáticamente muy complejas. La alternativa es encontrar alguna expresión sencilla que se ajuste a los datos experimentales encontrados. La solución de este tipo más utilizada en la bibliografía fue presentada por K.Cole y R.Cole[4], que modelan la evolución de la permitividad como:

$$\varepsilon^* = \varepsilon_\infty + \frac{\varepsilon_s - \varepsilon_\infty}{1 + (j\frac{\omega}{\omega_C})^{(1-\alpha)}} - \frac{j\sigma_s}{\omega\varepsilon_0}$$

En esta expresión el parámetro a da idea del grado de dispersión de las constantes de tiempo asociadas al fenómeno de la relajación dieléctrica. Si $\alpha = 0$, indica que sólo hay una constante de tiempo y la expresión compleja de la permitividad coincide con la ecuación de Debye. La dispersión de las constantes de tiempo aumenta al hacerlo este parámetro, por esto nos da idea del grado de homogeneidad del dieléctrico. La ecuación que rige esta distribución de constantes, para el modelo de Cole-Cole es:

$$\rho(\tau) = \frac{1}{2\pi} \frac{\sin(\alpha\pi)}{\cosh\left[(1-\alpha)\ln\frac{\tau}{\tau_c}\right] - \cos(\alpha\pi)}$$

El parámetro f_c es la frecuencia ligada a la constante de tiempo media de esta distribución

$$f_c = \frac{1}{2\pi\tau_c}$$

De forma análoga es posible encontrar las expresiones que modelan el comportamiento de la conductividad

$$\sigma^{*} = \sigma_{\infty} + \frac{\sigma_{s} - \sigma_{\infty}}{1 + (-j\frac{\omega}{\omega_{c}})^{(1-\alpha)}} + j\omega\varepsilon\varepsilon_{\infty 0}$$

O la impedancia del dieléctrico

$$Z = R_{\infty} + \frac{R_{0} - R_{\infty}}{1 + \left(j\frac{\omega}{\omega_{c}}\right)^{(1-\alpha)}}$$

Siendo posible utilizar cualquiera de estas dos ecuaciones para modelar el comportamiento de materiales dieléctricos

Cuando el medio estudiado es pasivo, isótropo y está libre de generadores independientes, la parte real e imaginaria de la conductividad compleja (o permitividad compleja) están relacionadas mediante las ecuaciones de Kramers-Kronig[5]. Ésta es una relación similar a la que se encuentra con las partes reales e imaginarias de la impedancia de circuitos pasivos de parámetros concentrados. Esto podría hacernos pensar en la posibilidad de medir únicamente uno de los dos componentes. Sin embargo, esto no es aplicable en la práctica debido al número finito de valores discretos medidos en un margen reducido de frecuencias. Las limitaciones del uso de las relaciones de Kramers-Kronig en datos experimentales de bioimpedancia se muestran en Riu y Lapaz[6], 1998.

Bibliografía

[1] Handbook of Biological Effects of Electromagnetic Fields
Polk, Postow. Ed. CRC Press
[2] Campos y Ondas
Ramo S., Whinnery J. R., Van Duzer T. , Ed. Piramide, Madrid 1965.
[3] Dielectric properties of tissues and biological materials: A critical review. Critical Reviews in Biomedical Eng. Vol. 17, No. 1, pp. 25-104, 1989
Foster K.R., Schawn H. P.
[4] Dispersión and absorption in dielectrics. I. Alternating current characteristics
Cole K. S., Cole R. H., Journal of Chemical Physics, Vol. 9, pp. 341-351, 1941
[5] Application of Kramers-Kronig Transforms in the Analysis of electrochemical impedance data, II, Transformations in the complex plane.
Urquidi-MacDonald M., Real S., MacDonald D. D.
J. Electrochem. Soc., Vol. 133, pp. 2018-2024, 1986.
[6] Practical limits of the Kramers-Kroning relationships applied to experimental bio-impedance date.
Riu P. J., Lapaz C., Proc. Of X International Conference on Electrical Bioimpedance. Barcelona, pp. 123-126, 1998
[7] Física Medica y Biología.
Remizov. Ed. MIR

Apéndice B
Conteo de células en sangre

El conteo celular es una técnica conocida como *citometría*, W. Coulter describió un método[1] muy exacto que es utilizado por los aparatos modernos, en el cual un instrumento emplea un sistema de medición no óptico, que provee un rango de medición que excede las 6.000 células individuales por segundo con un intervalo de conteo de 15 segundos. Una suspensión de células sanguíneas es pasada a través de un pequeño orificio simultáneamente con una corriente eléctrica. Las células sanguíneas individuales que pasan a través del orificio producen un cambio de impedancia el cual está determinado por el tamaño de la célula. El sistema cuenta las células individuales y provee distribución de tamaños. El número de células contadas por muestra es aproximadamente 100 veces mayor que los recuentos microscópicos, reduciendo el error estadístico aproximadamente 10 veces[1]. Los contadores COULTER realizan este recuento por triplicado para eritrocitos, leucocitos y plaquetas. Este sistema es actualmente el método de referencia para el recuento de células y es usado por todos los fabricantes de contadores celulares.

- El número de pulsos eléctricos indica la cantidad de partículas que pasan a través de la apertura y el tamaño de los pulsos es proporcional al volumen de las partículas[2,3,4]
- Los contadores modernos aún siguen usando este método, el cual es el método de referencia para recuentos de células

Las limitaciones de este método están relacionadas con los tipos de partículas a medir, como condición básica las partículas en estudio deben ser menos conductoras de electricidad que el medio en que están disueltas, el tamaño de las partículas a medir debe estar entre el 2 y el 60 % de el diámetro de la apertura

Como se diferencian las células

Los sistemas COULTER poseen 2 baños, uno de eritrocitos y otro de leucocitos, en el baño de eritrocitos se encuentra una apertura de 50μm y en el de los leucocitos otra de 100μm.

En cada apertura se realizan 3 recuentos de 4 segundos y se obtiene el promedio(en el caso de STKS y GEN-S, estos poseen 3 aperturas de eritrocitos y 3 de leucocitos por lo que la lectura sólo dura 4 segundos y se obtiene el promedio de las 3 aperturas)

En el baño de los eritrocitos el sistema identifica los eritrocitos como aquellas partículas que poseen un volumen igual o mayor que 36fL (femtolitro), en este mismo baño se realiza el recuento de plaquetas las cuales tienen un volumen entre 2 y 20fL, en los contadores COULTER si existe un recuento pequeño de plaquetas, el tiempo de recuento se extiende por 4 segundos más, a fin de tener un mayor valor estadístico.

En el baño de leucocitos posterior a la dilución con diluyente isotónico, se aplica agente lisante, el cual destruye la membrana citoplasmática de eritrocitos y leucocitos,

permaneciendo los núcleos intactos. Es así que las partículas que midan 35 fL o más son contadas como leucocitos. Hay que hacer notar que los núcleos de eritroblastos si existiesen también son contados, por lo que si el instrumento señala sospecha de su presencia se deben buscar en el frotis y de tener un número considerable, se debe corregir el recuento de leucocitos.

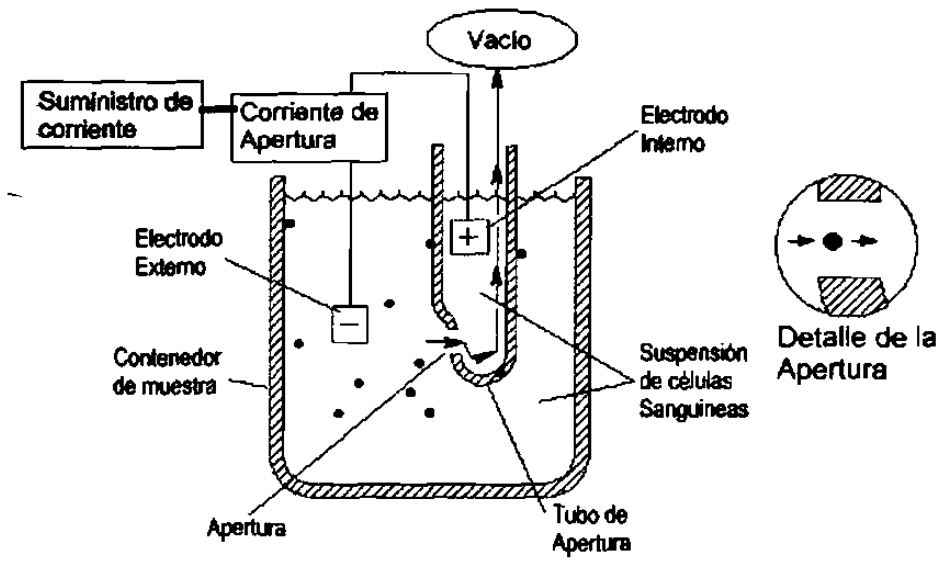

Figura B.1 Las células sanguíneas individuales que pasan a través del orificio producen un cambio de impedancia el cual está determinado por el tamaño de la célula

Leucocitos y Plaquetas

Posterior al recuento de leucocitos y utilizando la reacción química del lisante con la hemoglobina libre en la mezcla, se mide un complejo químico estable a 525nm, el cual dependiendo del instrumento, puede ser realizado en el mismo baño o en una cubeta de flujo especialmente diseñada.

Consecuentemente los parámetros medidos son: Eritrocitos (RBC), Leucocitos (WBC), Plaquetas (PLT) y Hemoglobina (Hgb)

Los parámetros derivados de las mediciones de volumen son:
- Volumen corpuscular medio (VCM o MCV)
- Ancho de distribución eritrocitaria (ADE o RDW)
- Volumen plaquetario medio (VPM o MPV)

Los parámetros calculados son:
-Hematocrito (Hct)
-Hemoglobina corpuscular media (HCM o MCH)
-Concentración corpuscular media (CHCM o MCHC)

Histogramas de leucocitos, eritrocitos y plaquetas

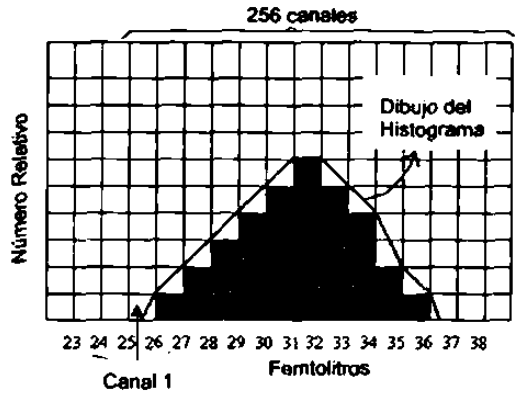

Figura B.2a Histograma representativo del conteo de células en volumen.

Como se mencionaba anteriormente el analizador mantiene una estadística de los volúmenes celulares, y luego realiza una distribución de cantidad relativa versus volumen de estas tres poblaciones, la separación de volúmenes se hace con una resolución de 256 canales para cada parámetro.

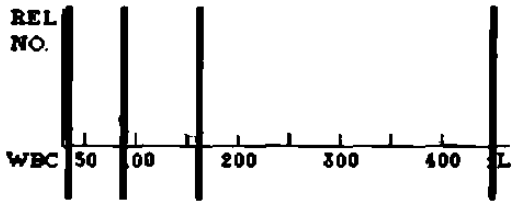

Figura B.2b Histograma de Leucocitos

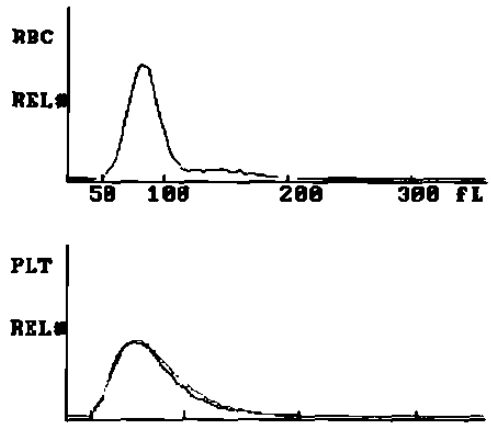

Figura B.2c Histograma de Eritrocitos (arriba) y Plaquetas (abajo).

Reproducibilidad y exactitud del método COULTER

Si el recuento en el tiempo predefinido de lectura (4 segundos) es muy bajo, el analizador cuenta por otros 4 segundos más. Como comprobación y a fin de detectar posible acumulación plaquetaria, los instrumentos COULTER, utilizando el método de mínimos cuadrados menores para ajustar la curva de distribución a log normal y se verifica que la curva sea positiva, que la moda de los tamaños de las plaquetas este entre 3 y 15 fL y el ancho de distribución plaquetaria sea menos de 20%, si alguno de estos criterios no se cumple, se informa una alarma.

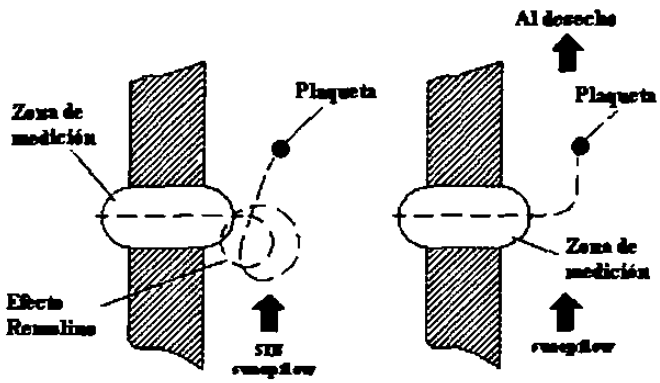

Figura B.3 Sistema SWEET FLOW que permite minimizar el error debido a un posible recuento de plaquetas.

El método de conteo COULTER utiliza su tecnología de SWEET FLOW, que consiste en hacer circular una corriente de diluyente en la parte inmediatamente posterior de la apertura de eritrocitos, a fin de que las plaquetas como son tan pequeñas no permanezcan en el área de recuento y por lo tanto no se cuenten más de una vez.

Bibliografía

1. Coulter W.H, High speed automatic blood cell counter an cell size analyzer. paper presented al National Electronics Conference, Chicago, IL, 1956; October 3.

2. Eckhoff RF. An experimental indication of the volume proportional response of the Coulter Counter for irregularly shaped particles. J Sci Inst, 1967; 44:648-649

3. Grover NB, Naaman J, Ben Asson S and Dojanski F. Electrical sizing of particles in suspension III. Rigid spheroids an red blood cells. Biophys J,1972;12:1099-1116

4. Waterman CS, Atkinson EE, Wilkins B, Fischer CL and Kimsey SL. Improved measurement of erytrocyte volume distribution by aperture-counter signal analysis, Clin Chem, 1975; 21:1201-1211

Apéndice C
Anormalidades de la sangre

Razones por las que se realiza el examen del conteo de glóbulos blancos

El examen se realiza debido a que los glóbulos blancos son las células que combaten las infecciones y también están relacionados a reacciones alérgicas, tumores y estrés en general. Esta evaluación es importante en muchas condiciones y estados diferentes de las enfermedades. Por ejemplo cuando se tiene en el conteo 1,000 neutrófilos o menos, el riesgo de infección aumenta. Esta condición se conoce como "neutropenia.".

Significado de los resultados anormales

El conteo bajo de GB (leucopenia) pueden ser indicio de:

- Insuficiencia en la medula ósea debido por ejemplo a: infecciones, granuloma, tumor o fibrosis
- Presencia de una sustancia citotóxica
- Enfermedades vasculares del colágeno (tales como el lupus eritematoso)
- Enfermedad del hígado o el bazo
- Irradiación

El conteo alto de GB (leucocitosis) puede ser indicio de:

- Enfermedades infecciosas
- Enfermedades inflamatorias (tales como artritis reumatoide o alergia)
- Leucemia
- Estrés emocional o físico severos
- Daño tisular (como por ejemplo, quemaduras)

Consideraciones especiales

Cualquier infección o estrés agudo ocasiona un aumento en la producción de leucocitos, que generalmente lleva a un incremento en el porcentaje de células inmaduras en la sangre (células en banda). Este cambio se conoce como "desviación a la izquierda" por el histograma de la biometría.

Factores que interfieren en los resultados del examen:

El conteo de leucocitos se incrementa por:

- Estrés físico y emocional agudo
- Personas que han tenido una esplenectomía
- Los medicamentos: la epinefrina, el alopurinol, la aspirina, el cloroformo, la heparina, la quinina, los corticosteroides y el triamtereno.

El conteo de los leucocitos disminuye por:

Los medicamentos: los antibióticos, los anticonvulsantes, los antihistamínicos, las drogas antitiroideas, los arsenicales, los barbitúricos, los agentes quimioterapéuticos, los diuréticos y las sulfonamidas.

Razones por las que se realiza el examen del conteo de glóbulos rojos

Este examen puede ayudar en la evaluación de un cuadro de anemia (hemoglobina baja) al igual que otras condiciones que afectan el compartimiento de los glóbulos rojos.

Significado de los resultados anormales

Los glóbulos rojos anormales tienen un período de vida corto debido a diversos trastornos; por ejemplo: trauma intravascular de los glóbulos rojos, como el que causan las válvulas cardíacas artificiales o placas ateroscleróticas vasculares periféricas (vasos sanguíneos), que pueden destruirlos. De igual manera, ciertas condiciones tales como el agrandamiento del bazo, como cuando es causado por hipertensión portal o la leucemia, pueden destruir tanto los glóbulos rojos normales como los senescentes (viejos).

Un conteo alto de glóbulos rojos puede ser indicio de tensión baja de oxígeno en la sangre como consecuencia de :

- Enfermedad cardiaca congénita
- Cor pulmonale
- Fibrosis pulmonar
- Policitemia vera
- Deshidratación (por diarrea severa)
- Enfermedad del riñón con alta producción de eritropoyetina

Los conteos bajos de GRS pueden ser indicio de pérdida de sangre como consecuencia de:

- Anemia (varios tipos)
- Hemorragia (sangrado)
- Insuficiencia de la médula ósea (ejemplo: irradiación, toxinas, fibrosis y tumores)
- Deficiencia de eritropoyetina (secundaria a las enfermedades renales)
- Hemólisis (destrucción de glóbulos rojos) por reacción a la transfusión
- Leucemia
- Mieloma múltiple
- Desnutrición

Deficiencias nutricionales de:

- Hierro
- Folato
- Vitamina B12
- Vitamina B6
- Sobrehidratación

Condiciones adicionales bajo las cuales se puede realizar el examen:

- Síndrome de Alport
- Anemia hemolítica debido a la deficiencia de G6PD
- Anemia hemolítica autoinmune idiopática
- Anemia hemolítica inmune

- Macroglobulinemia de Waldenstrom
- Hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN)
- Mielofibrosis primaria
- Carcinoma de células renales
- Anemia hemolítica inmune inducida por medicamentos
- Anemias congénitas como la talasemia

Anemia

Cuando no tiene suficientes glóbulos rojos existe una condición conocida como "anemia", los niveles de hematócrito y hemoglobina estarán por debajo de lo normal. Se pueden tener los siguientes síntomas:

- Mareos
- Falta de aliento
- Palpitaciones cardiacas (latidos cardiacos acelerados)
- Punzadas en su cabeza
- Zumbido en sus oídos.

Razones por las que se realiza el examen de hemoglobina

Las anomalías de los valores de la hemoglobina indican defectos en la homeostasia (balance) de los glóbulos rojos y tanto los valores altos como los bajos son indicadores de estados patológicos.

Significado de los resultados anormales de hemoglobina

Los valores bajos de hemoglobina pueden ser indicio de:

- Anemia (de varias tipos)
- Falta de eritropoyetina (secundaria a la enfermedad renal)
- Hemólisis (destrucción de los glóbulos rojos) por reacción a transfusión
- Hemorragia (sangrado)
- Intoxicación por plomo
- Desnutrición
- Deficiencias nutricionales de hierro, folato, vitamina B12 y vitamina B6
- Sobrehidratación

Los valores altos de hemoglobina pueden ser indicio de:

- Enfermedad cardiaca congénita
- Cor pulmonale
- Fibrosis pulmonar
- Policitemia vera
- Aumento en la formación de glóbulos rojos asociada con el exceso de eritropoyetina

Otras condiciones bajo las cuales se puede realizar el examen:

- Anemia por enfermedad crónica
- Hemoglobina C clínica

- Diabetes mellitus
- Arteritis de células gigantes (temporal, craneal)
- Anemia hemolítica debido a una deficiencia de G6PD
- Diabetes mellitus insulinodependiente (DMID)
- Anemia aplásica idiopática
- Anemia hemolítica autoinmune idiopática
- Anemia inmunohemolítica
- Anemia ferropénica
- Hemoglobinuria paroxística por frío (HPF)
- Hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN)
- Anemia perniciosa
- Desprendimiento prematuro de la placenta
- Polimialgia reumática
- Rabdomiólisis
- Anemia aplásica secundaria
- Anemia inmunohemolítica inducida por drogas

Razones por las que se realiza el examen de hematocrito
El hematocrito revela la proporción de células y líquidos en la sangre.

Significado de los resultados anormales de hematocrito
Los valores bajos de hematocrito pueden ser indicio de:

- Anemia por deficiencia de B12
- Anemia por enfermedad crónica
- Anemia por deficiencia de ácido fólico
- Anemia hemolítica inmune inducida por medicamentos
- Anemia hemolítica
- Anemia hemolítica por deficiencia de glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (G6PD)
- Anemia aplásica idiopática
- Anemia hemolítica autoinmune idiopática
- Anemia hemolítica inmune
- Anemia por deficiencia de hierro
- Anemia megaloblástica
- Anemia perniciosa
- Anemia aplásica secundaria
- Anemia de células falciformes
- Pérdida de sangre (hemorragia)
- Insuficiencia de la médula ósea (debido a la radiación, toxina, fibrosis o tumor)
- Hemólisis (destrucción de los glóbulos rojos) por reacción a transfusión
- Leucemia
- Leucemia mielógena crónica (LMC)
- Leucemia de células pilosas
- Leucemia linfocítica crónica (LLC)
- Leucemia linfocítica aguda
- Leucemia no linfocítica aguda (LMA)
- Leucemia mielomonocítica crónica

- Desnutrición o deficiencia nutricional específica
- Mieloma múltiple
- Artritis reumatoide

Los valores altos de hematocrito pueden ser indicio de:

- Deshidratación
- quemaduras
- diarrea
- Eritrocitosis (producción excesiva de glóbulos rojos)
- Policitemia vera

Razones por las que se realiza el examen del conteo plaquetario

Se puede medir para evaluar la causa de un sangrado excesivo.

Significado de los resultados anormales del conteo plaquetario

La disminución en el número de plaquetas (por debajo del límite menor normal) se llama trombocitopenia y el aumento en el número de las mismas (superior al límite normal más alto) se llama trombocitosis

La disminución del número de plaquetas puede estar relacionada con:

- Quimioterapia por cáncer
- Coagulación intravascular diseminada (CID)
- Anemia hemolítica
- Hiperesplenismo
- Púrpura trombocitopénica idiopática (PTI)
- Leucemia
- Válvula coronaria protésica
- Secuela por masiva transfusión de sangre

El aumento en el número de plaquetas puede estar relacionado con:

- Policitemia vera
- Síndrome post-esplenectomía
- Trombocitosis primaria
- Algunas malignidades
- CML temprana

Trombocitopenia

Cuando no hay suficientes plaquetas existe una condición conocida como "trombocitopenia." Se pueden desarrollar moretones o magulladuras fácilmente y también puede tener algunos de los siguientes signos:

- manchas pequeñas del tamaño de la cabeza de un alfiler rojas o moradas en su piel (petequias)
- sangrado por la nariz
- encías que sangran

Pruebas proteicas por electroforesis

La electroforesis es una técnica de laboratorio en la cual el suero sanguíneo se coloca en un papel especialmente tratado y luego se expone a una corriente eléctrica. Las diferentes proteínas migran o se mueven en el papel con el fin de formar bandas que indican la proporción relativa de cada fracción de proteína. Por lo general, las proteínas individuales, a excepción de la albúmina, no se miden; sin embargo, se miden las fracciones o grupos de proteínas. Los niveles de las fracciones se pueden calcular aproximadamente mediante las mediciones de la proteína sérica total y multiplicada por el porcentaje relativo de cada fracción de la proteína del componente. La electroforesis de lipoproteínas es un tipo de electroforesis de proteínas que se concentra en la determinación de la cantidad de lipoproteínas, como el colesterol LDL.

Razones por las que se realiza el examen

Las proteínas séricas están separadas enormemente en albúminas y globulinas, así que la proteína total = albúmina + globulina. La albúmina es la proteína de mayor concentración en el suero (el plasma es suero más fibrinógeno) que sirve para transportar muchas moléculas pequeñas y también juega un papel decisivo en el mantenimiento de la presión oncótica de la sangre, la cual hace que el líquido no se filtre a los tejidos.

Las globulinas se dividen a grandes rasgos en globulinas alfa-1, alfa-2, beta y gama globulinas, las cuales se pueden separar y cuantificar en el laboratorio mediante la electroforesis y la densitometría.

La fracción alfa-1 incluye la alfa-1 antitripsina y la globulina fijadora de tiroxina. La fracción alfa -2 contiene la haptoglobina, ceruloplasmina, HDL y alfa-2 macroglobulina. En general, los niveles de proteínas alfa-1 y alfa-2 aumentan cuando hay inflamación. La fracción beta incluye la transferrina, el plasminógeno y las beta lipoproteínas (ver LDL). La fracción gama incluye los diferentes tipos de anticuerpos (inmunoglobulinas M, G y A).

Valores normales

- Proteína total: 6,4 a 8,3 g/dl
- Albúmina: 3,5 a 5,0 g/dl
- Alfa-1 globulina: 0,1 a 0,3 g/dl
- Alfa-2 globulina: 0,6 a 1,0 g/dl
- Beta globulina: 0,7 a 1,2 g/dl
- Gama globulina: 0,7 a 1,6 g/dl

Nota g/dl = gramos por decilitro.

Significado de los resultados anormales

La disminución de la proteína total puede indicar:

- Desnutrición
- Síndrome nefrótico
- Enteropatía por pérdida de proteínas gastrointestinal

El aumento de las proteínas alpha-1 globulina puede indicar:

- Enfermedad inflamatoria crónica (por ejemplo artritis reumatoide, LES)
- Malignidad
- Enfermedad inflamatoria aguda

La disminución de las proteínas alfa-1 globulinas pueden indicar:

- Deficiencia de alfa-1 antitripsina

El aumento de las proteínas alfa-2 globulinas puede indicar:

- Inflamación aguda
- Inflamación crónica

La disminución de las proteínas alfa-2 globulinas puede indicar:

- Hemólisis

El aumento de las proteínas beta globulinas puede indicar:

- Hiperlipoproteinemia (por ejemplo, hipercolesterolemia familiar)
- Terapia de estrógenos

La disminución de las proteínas beta globulinas puede indicar:

- Trastorno de coagulación congénito
- Coagulopatía de consumo
- Coagulación intravascular diseminada

El aumento de las proteínas gama globulinas puede indicar:

- Mieloma múltiple
- Enfermedad inflamatoria crónica (por ejemplo artritis reumatoidea, LES)
- Hiperinmunización
- Infección aguda
- Macroglobulinemia de Waldenstrom
- Enfermedad hepática crónica

Consideraciones especiales

Los medicamentos que pueden afectar la medición de las proteínas totales incluyen clorpromazina, corticosteroides, isoniazida, neomicina, fenacemida, salicilatos, sulfonamidas y tolbutamida.

No se recomienda ingerir alimentos 4 horas antes del examen (únicamente antes del examen para electroforesis de lipoproteínas).

Tabla C.1 Sustancias más comunes en la sangre y su relación a los exámenes de diagnostico.

Prueba	Heparina	EDTA	Hemólisis	Ictericia	Otros	25° C	4° C	-20° C
Ac. Urico	No interfiere	No interfiere	Sí interfiere	Hasta 10 mg/dl	-		5 días	5 días
Ac. Biliares	No interfiere	Sí interfiere	Sí interfiere	-	-	8 horas	1 semana	meses
Albúmina	No interfiere	No interfiere	Sí interfiere	No interfiere	-	6 días	6 días	meses
ALT	No interfiere	No interfiere	Sí interfiere	-	-	1 día	7 días	meses
Amilasa	No interfiere	No interfiere	Sí interfiere	-	-	7 días	7 días	meses
Amoníaco	Sí interfiere	No interfiere	Sí interfiere	-	-	Inestable	Inestable	Inestable
AST	No interfiere	No interfiere	Sí interfiere	-	-	3 días	7 días	meses
Bilirrubina	No interfiere	No interfiere	Sí interfiere	-	Luz	1 día	1 día	-
Calcio	No interfiere	Sí interfiere	Sí interfiere	-	Lipenia	10 días	10 días	8 meses
Cloro	No interfiere	Sí interfiere	Sí interfiere	Sí interfiere	-	7 días	7 días	7 días
Cobre	Sí interfiere	Sí interfiere	Sí interfiere	-	-	14 días	14 días	meses
Colesterol	No interfiere	No interfiere	No interfiere	Hasta 4 mg/dl	-	6 días	4 meses	meses
Colinesterasa	No interfiere	No interfiere	No interfiere	-	-	7 días	7 días	3 meses
CK actvada	No interfiere	No interfiere	Sí interfiere	Hasta 200 mg	-	2 días	1 semana	1 mes
Creatinina	No interfiere	No interfiere	No interfiere	Hasta 5 mg/dl		24 h.	2 días	meses
Fosfa. Alca.	No interfiere	Sí interfiere	Sí interfiere	Hasta 3 mg/dl	-	24 h.	3 días	3 meses
Fósforo	No interfiere	No interfiere	Sí interfiere	-	-	2 días	7 días	meses
Fructosamimina	No interfiere	No interfiere	-	-	-	3 días	15 días	2 meses
GGT	Sí interfiere	Sí interfiere	Sí interfiere	Sí interfiere	-	5 días	10 días	1 mes
Glucosa	No interfiere	No interfiere	Sí interfiere	-	-	8 horas	-	-
Gldh	No interfiere	No interfiere	Sí interfiere	-	Lipemia	1 día	3 días	meses
Hierro	No interfiere	Sí interfiere	Sí interfiere	-	-	4 días	7 días	-
LDH	No interfiere	No interfiere	Sí interfiere	-	-	7 días	-	No congelar
Lipasa	No interfiere	Sí interfiere	Sí interfiere	-	-	24 h.	5 días	1 mes
Magnesio	No interfiere	No interfiere	Sí interfiere	-	-	7 días	-	-
Potasio	No interfiere	Sí interfiere	Sí interfiere	-	-	2 sema.	2 semanas	-
Proteínas	No interfiere	No interfiere	Sí interfiere	-	-	7 días	1 mes	meses
Sodio	No interfiere	Sí interfiere	Sí interfiere	-	-	2 sema.	2 semanas	-
Triglicéridos	No interfiere	No interfiere	No interfiere	-	-	3 días	4 días	4 meses
Urea	No interfiere	No interfiere	No interfiere	-	-	24 h.	3 días	6 meses

Tabla C.2 Hormonas y metabolitos más comunes en la sangre y su relación a los exámenes de diagnostico.

Prueba	Heparina	EDTA	Hemólisis	Ictericia	Otros	25° C	4° C	-20° C
Ac. Fólico	No interfiere	No interfiere	Sí interfiere	-	-	1 día	1 semana	meses
B 12	No interfiere	No interfiere	Sí interfiere	-	-	1 día	1 semana	meses
Cortisol	No interfiere	No interfiere	No interfiere	-	-	2 días	8 días	3 meses
Progesterona	No interfiere	No interfiere	Sí interfiere	-	-	1 día	1 semana	meses
T4 total	No interfiere	Sí interfiere	Sí interfiere	-	-	1 semana	1 semana	1 mes
T3 total	No interfiere	Sí interfiere	Sí interfiere	-	-	24 horas	2 semanas	1 mes
T4 libre	Sí interfiere	Sí interfiere	Sí interfiere	-	-	2 días	2 días	1 mes
Tripsina canina (TLI)	No interfiere	No interfiere	Sí interfiere	-	-	1 día	3 días	meses

Bibliografía

1. MEDLINEplus. Biblioteca Nacional de Medicina (información de salud para el público). http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/bloodlymphaticsystem.html

APÉNDICE D
Extracto de Norma Oficial Mexicana NOM-003-SSA2-1993

De acuerdo con la **NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-003-SSA2-1993, "Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos"** publicada el lunes 18 de julio de 1994 en el DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN se presentan algunos puntos de interés para este trabajo en relación a la conservación y desecho de la sangre humana.

La sangre extraída debe hacerse por personal capacitado y en las condiciones indicadas en el capitulo 6 de la norma, después de ello:

Se conservarán entre +1° y +6° C
Su vigencia máxima (como sangre fresca) después de la recolección, será de seis horas
En sistemas cerrados, su vigencia máxima a partir de la recolección dependerá del anticoagulante empleado, con las variaciones siguientes:

- Heparina: 48 horas
- ACD (dextrosa, ácido cítrico y citrato trisódico): 21 días
- CPD (dextrosa, citrato trisódico, ácido cítrico, fosfato sódico): 21 días
- CPDA (dextrosa, citrato trisódico, ácido cítrico, fosfato sódico y adenina): 35 días
- CPDA con manitol (dextrosa, citrato trisódico, ácido cítrico, fosfato sódico, adenina y manitol): 45 días

Para cualquier unidad de sangre o componente sanguíneo en un sistema abierto, bajo condiciones de esterilidad, su vigencia máxima será:

- De 24 horas, si se conserva entre +1° y +6° C;
- De cuatro horas, si se conserva entre +20° y +24° C
- Las unidades que se conservan en congelación, mantendrán el periodo de vigencia que indican las tablas D.2 y D.3.

Componentes sanguíneos
Los componentes sanguíneos se podrán obtener mediante los procedimientos siguientes:

- Sedimentación por gravedad (de unidades de sangre);
- Centrifugación a temperatura controlada (de unidades de sangre);
- Aféresis.

Eritrocitos
La separación de los eritrocitos se realiza por centrifugación, la temperatura de conservación, su vigencia máxima a partir de su extracción así como las características especiales se presentan el la tabla D.1.

Tabla D.1 CONCENTRADO DE ERITROCITOS Y SUS VARIANTES

Tipo de unidad	Volumen	Temperatura de conservación	Vigencia máxima	Características especiales
Concentrado de eritrocitos	180 a 350 mL	+1° a +6°C.	Según el anticoagulante	Ninguno
Concentrado de eritrocitos pobre en leucocitos	180 a 350 mL	+1° a +6°C.	Según el anticoagulante	Contenido máximo de leucocitos por unidad: 1×10^9
Concentrado de eritrocitos lavados (con solución salina, al 0.9 %)	180 a 350 mL	+1° a +6°C.	4 a 24 horas, a partir de su preparación (véase nota)	Plasma ausente, pobre en leucocitos y plaquetas
Concentrado de eritrocitos congelados (preparados con glicerol)	180 a 350 mL	65°C. o menor (glicerol al 40 %) -120°C. o menor (glicerol al 20 %)	6 a 10 años (dependiendo de la concentración de glicerol) Lavados, véase nota	Sobrenadante claro después del último lavado. Máximo de hemoglobina libre en el sobrenadante: 2,000 mg/L

NOTA: Cuando el procedimiento para el lavado o desglicerado de los eritrocitos sea capaz de conservar el sistema cerrado o semicerrado, los eritrocitos tendrán una vigencia máxima de 24 horas, de lo contrario, su vigencia máxima será de cuatro horas.

Leucocitos y plaquetas

Los concentrados de leucocitos se obtendrán por técnicas de aféresis o bien, por fraccionamiento de unidades de sangre fresca.

Las unidades de concentrados de leucocitos y de plaquetas, deberán tener los requisitos intrínsecos, de obtención, conservación y vigencia que indica la tabla D.2:

Tabla D.2 CONCENTRADOS DE LEUCOCITOS Y DE PLAQUETAS

Tipo de unidad	Fuente de obtención	Volumen	Temperatura de conservación	Vigencia máxima	Mínimos en el 75 % o más de las unidades (al límite de vigencia)
Concentrado de leucocitos (neutrófilos)	Por aféresis	Variable	+20° a +40° C.	24 horas	1.0×10^{10} neutrófilos
Concentrado de plaquetas	Por fraccionamiento de sangre fresca entre +18° y +24° C.	45 a 60 mL	+20° a +24° C. (véase nota)	24 a 72 horas (véase nota)	5.5×10^{10} plaquetas y pH de 6.0
	Por aféresis	200 a 250 mL	+20° a +24° C. (véase nota)	24 horas a 5 días (véase nota)	3.0×10^{11} plaquetas y pH de 6.0

NOTA: Las plaquetas podrán conservarse entre +1° y +6° C, en sistemas cerrados y sin agitación (en estas condiciones no mantienen su función y viabilidad tanto como las conservadas entre +20° y +24° C. y en agitación).

Plasma

Las unidades de plasma se podrán obtener por centrifugación o por sedimentación de unidades de sangre, así como, por aféresis. La sangre fresca deberá centrifugarse a temperaturas entre +1° y +6° C para que se obtenga plasma fresco. El plasma fresco contiene proteínas (albúmina e inmunoglobulinas) y todos los procoagulantes; se considerará como tal al que se encuentra en las primeras seis horas después de su recolección; el plasma fresco congelado es el que se congela durante las primeras seis horas después de su recolección y deberá mantenerse a las temperaturas que indica la tabla D.3 correspondiente a plasma de esta Norma.

El plasma fresco congelado que ha llegado al término de su periodo de vigencia o que no se hubiese mantenido a las temperaturas apropiadas de conservación, deberá considerarse como plasma envejecido.

El plasma desprovisto de crioprecipitado, contiene proteínas y factores de coagulación, con excepción de que su contenido de factor VIII, fibrinógeno y fibronectina se encuentran reducidos. Su volumen, temperatura de conservación y periodo de vigencia serán los que señala la tabla D.3 para el plasma envejecido.

Las unidades de plasma y crioprecipitado (Fracción proteica del plasma fresco congelado que precipita al descongelarse en condiciones controladas), deberán tener los requisitos intrínsecos, de conservación y vigencia que indica la tabla D.3.

Tabla D.3 PLASMA Y CRIOPRECIPITADOS

Tipo de unidad	Volumen	Mínimos en el 75 % más de las unidades (al límite de vigencia)	Temperatura de conservación	Vigencia máxima a partir de la recolección
Plasma fresco	150 a 180 mL (por centrifugación de unidades de sangre fresca) 450 a 750 mL (por aféresis)	Proteínas 60 g/L Factor VIII 1 UI/mL Fibrinógeno 160 mg/dl	-18° C. o menor (véase nota)	12 meses (6 horas, una vez descongelado)
Plasma envejecido	150 a 180 mL (por fraccionamiento de unidades de sangre 450 a 750 mL (por aféresis)	Proteínas 60 g/L	-18° C. o menor +1° a +6° C.	5 años (véase nota) 26 días (con ACD o con CPD); 40 días (con CPDA) 12 meses
Crioprecipitado	10 a 25 mL	Factor VIII: 80 UI	-18° C. o menor (6 horas, una vez (véase nota)	

Nota: El factor VIII de la coagulación se preserva mejor cuando el plasma fresco y crioprecipitado se conservan a temperaturas de -30° C. o menores. El plasma envejecido conservado en congelación pero a temperaturas por arriba -18° C, tendrá una vigencia máxima de un año a partir de su recolección.

Desecho de la sangre

Se deberá dar destino final a las unidades de sangre o componentes sanguíneos en los casos siguientes:

a) Las recolectadas de disponentes que en el folleto de autoexclusión confidencial, respondieron que su sangre "NO ES SEGURA" para transfusión alogénica;

b) Las que pasan su periodo de vigencia de acuerdo a lo señalado en el capítulo 9 de esta norma;

c) Las que son devueltas al banco de sangre o, en su caso, al servicio de transfusión, en las condiciones que a continuación se indican:

- Cuando hayan transcurrido dos horas o más después de su egreso;
- Aquéllas en las que se hubiere abierto el sistema, que contengan aire, que muestren signos de hemólisis, cualquier cambio físico o que tengan una temperatura inapropiada para su correcta conservación;

d) Cuando sea tomada en condiciones inciertas de esterilidad.

Para dar destino final a las unidades de sangre o de sus componentes, se emplearán cualquiera de los procedimientos siguientes:

a) Incineración;

b) Inactivación viral, mediante cualquiera de los métodos que se enlistan:

- Utilizando soluciones de hipoclorito de sodio con una concentración del 4 al 7 % de cloro libre, y que agregadas en una proporción tal a la sangre o sus componentes, se logre una concentración final de cloro libre de 0.4 a 0.7 %, manteniéndose de esta manera durante una hora, previo a su desecho.

- Esterilización antes de su desecho, de acuerdo a lo indicado en el apartado B.6 de esta Norma.

Bibliografía

Para más referencias sobre el manejo del tejido sanguíneo pueden verse también:

Norma Oficial Mexicana NOM-017-SSA1-93
Norma Oficial Mexicana NOM-018-SSA1-93
Norma Oficial Mexicana NOM-019-SSA1-93
Norma Oficial Mexicana NOM-010-SSA2-1993
El articulo decimocuarto de la Ley General de Salud

APÉNDICE E
Prueba de ajuste al modelo experimental de EI

El medidor de impedancias IS 1260 puede probar su funcionamiento mediante dos métodos sencillos, el primero consiste en la medición de los parámetros eléctricos del agua destilada y se comparan con los reportados en la literatura[10], y el segundo método es con un circuito real de elementos previamente medidos con un multímetro preciso. El segundo método es el más confiable y rápido.

Ajuste por circuito real conocido

Para este caso, el arreglo experimental prueba en tres sencillos pasos

Paso 1

Se mide por separado una resistencia (figura 1.14a) y un capacitor (figura 1.14b) convencional con ayuda un multímetro de precisión (Fluke 187).

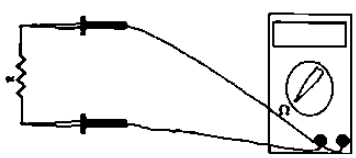

Figura 1.14a Medición directa de la resistencia

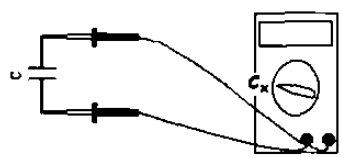

Figura 1.14b Medición directa de la capacitancia

Paso 2

Se ponen en paralelo la resistencia y el capacitor y sus extremos se colocan en el medidor de impedancias IS 1260 (figura 1.15), luego mediante el software de análisis se mide el valor de la resistencia y del capacitor a partir del espectro EI.

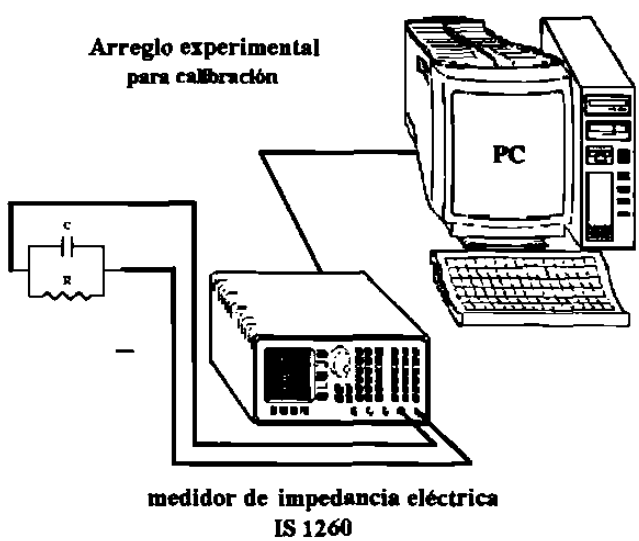

Figura 1.15 Medición indirecta de los parámetros del arreglo RC en paralelo.

Paso 3

Finalmente se comparan ambos resultados. Esta prueba aporta un error menor al 0.01% en las mediciones del espectrómetro.