	PROTOCOLO PARA PREPARACION DE INMUNIZACION CON LEUCOCITOS DEL COMPAÑERO (LINFOTERAPIA)	Código	
		PS-DC-045	
Fecha de Vigencia	22/04/2022	Versión 1	Página 1 de 2

PROTOCOLO PARA PREPARACIÓN DE LINFOTERAPIA

1. **DEFINICIÓN:** La inmunoterapia con linfocitos fue introducida como una opción terapéutica hace más de 20 años para parejas seleccionadas en quienes se les ha detectado fallas en el reconocimiento al embarazo y que se traduce en fallas de implantación, pérdida recurrente de la gestación y fallas repetidas en los tratamientos de reproducción asistida. La linfoterapia (LIT) es un procedimiento en el cual los leucocitos del esposo o de un donante son separados de la sangre total utilizando gradientes de densidad para ser posteriormente inyectados en la paciente de forma subcutánea o intradérmica con la intención de mejorar los procesos de receptividad y tolerancia al embarazo en los casos descritos; esta aplicación se realiza previa elaboración de las pruebas infecciosas (**HIV, Antígeno Hepatitis B, Anticuerpos contra Hepatitis C y serología**) de la pareja, con resultados negativos con una realización no mayor de 6 meses y firma de consentimiento informado. La LIT no debe ser tomada como primera línea de terapia y requiere la exclusión de otros factores que pueden participar en la falla reproductiva.


2. TOMA DE MUESTRA PARA PREPARACION DE LINFOTERAPIA

2.1 MATERIALES PARA TOMA DE MUESTRA

- 1 jeringa de 50cc
- Heparina
- Equipo de peri craneal 19 tipo mariposa
- Curitas
- Algodón
- Alcohol

2.2 PROCEDIMIENTO PARA TOMA DE MUESTRA

1. Verificar previamente firma de consentimiento informado y anexos de exámenes infecciosos (HIV, Antígeno Hepatitis B, Anticuerpos contra Hepatitis C y Serología) con resultados negativos cuya realización no sea mayor a 6 meses.
2. Identificar adecuadamente a la paciente y esposo, seguido de explicación de posibles efectos secundarios normales dentro del proceso de aplicación de la

	PROTOCOLO PARA PREPARACION DE INMUNIZACION CON LEUCOCITOS DEL COMPAÑERO (LINFOTERAPIA)	Código	
		PS-DC-045	
Fecha de Vigencia	22/04/2022	Versión 1	Página 1 de 2


linfoterapia y los cuidados pertinentes dentro de las 72 horas siguientes a la misma.

3. Realizar previa asepsia del brazo del paciente.
4. Colocar el equipo pericraneal a una jeringa con 0.1 cc - 0.3 cc de heparina.
5. Canalizar al paciente con el equipo pericraneal y extraer la totalidad del contenido de la jeringa de 50 cc.
6. Enviar a la Jeringa llena de sangre heparinizada con el consentimiento informado diligenciado, pruebas infecciosas con una realización no mayor a 6 meses.

3. MATERIALES PARA PREPARACION LINFOTERAPIA CONVENCIONAL

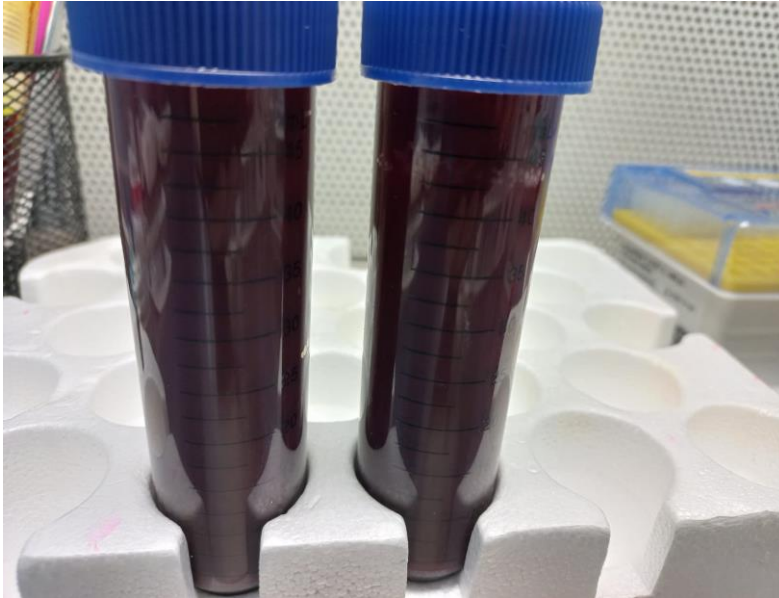
- De 14-16 tubos cónicos de 14ml
- 2 tubos tapa azul de 50 ml
- Solución salina al 0.9%
- Agua estéril
- Reactivo Ficoll
- Pipeta de 10 ml
- Pipeteador
- Jeringa de 20 ml
- Jeringa de 5ml
- Tubo de 3ml
- Jeringa de 50cc con muestra del paciente



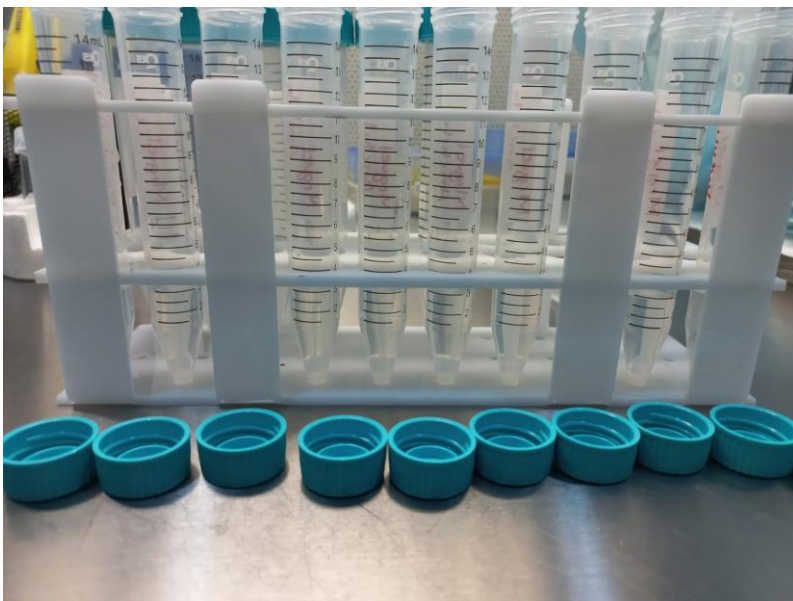
	PROTOCOLO PARA PREPARACION DE INMUNIZACION CON LEUCOCITOS DEL COMPAÑERO (LINFOTERAPIA)	Código	
		PS-DC-045	
Fecha de Vigencia	22/04/2022	Versión 1	Página 1 de 2


4. PROCEDIMIENTO

1. Diluya 25 cc de Sangre heparinizada del paciente en 25 cc de solución salina dentro de 2 tubos tapa azul de 50 ml y mezcle por inversión.

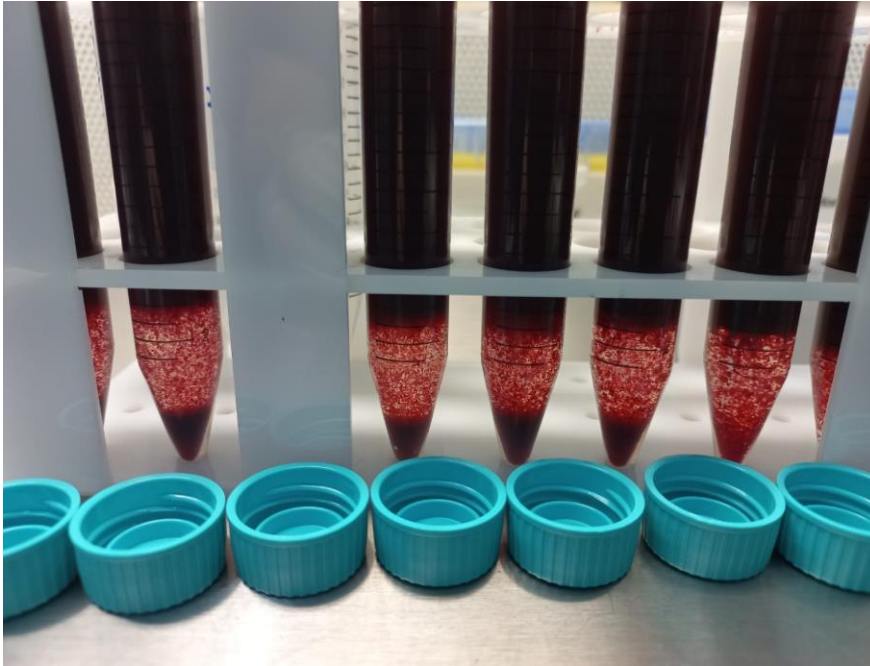


2. En 12 Tubos tapa azul de 15 ml dispensar 3 cc de Ficoll

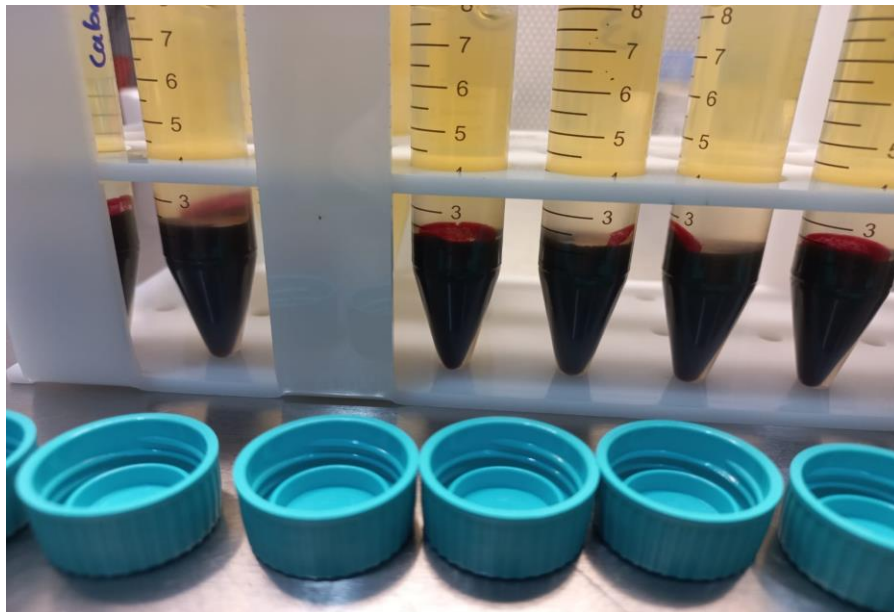



	PROTOCOLO PARA PREPARACION DE INMUNIZACION CON LEUCOCITOS DEL COMPAÑERO (LINFOTERAPIA)	Código	
		PS-DC-045	
Fecha de Vigencia	22/04/2022	Versión 1	Página 1 de 2

3. En los 12 Tubos tapa azul agregar sangre de la paciente diluida en los tubos con pipeta Pasteur de 3ml hasta llegar a 12 cc.

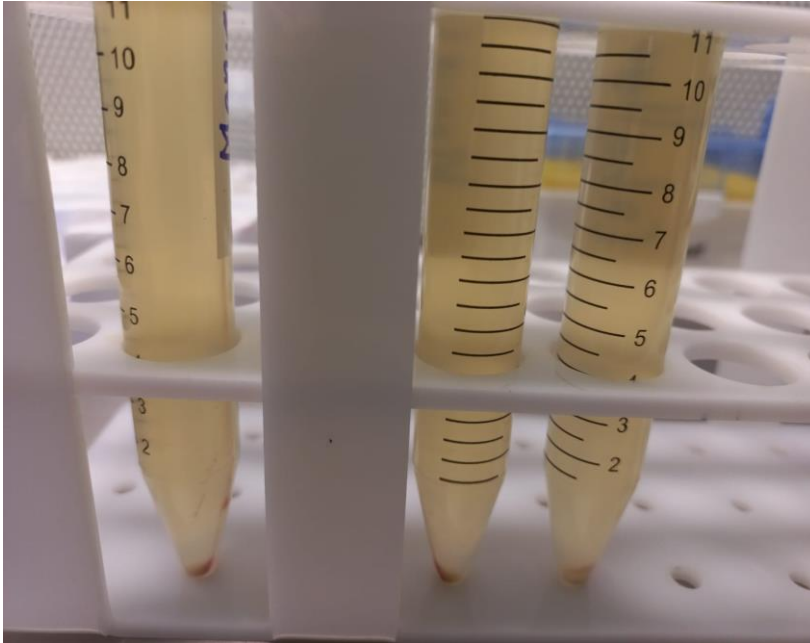


4. Centrifugar por 10 minutos a 2100 RPM
5. Con pipeta de pasteur retira los leucocitos de cada tubo y depositar en cada uno de los 4 tubos tapa azul de 15 ml restantes (vacíos) hasta llegar a 12cc.. En caso de no llegar hasta 12cc completar con solución salina.

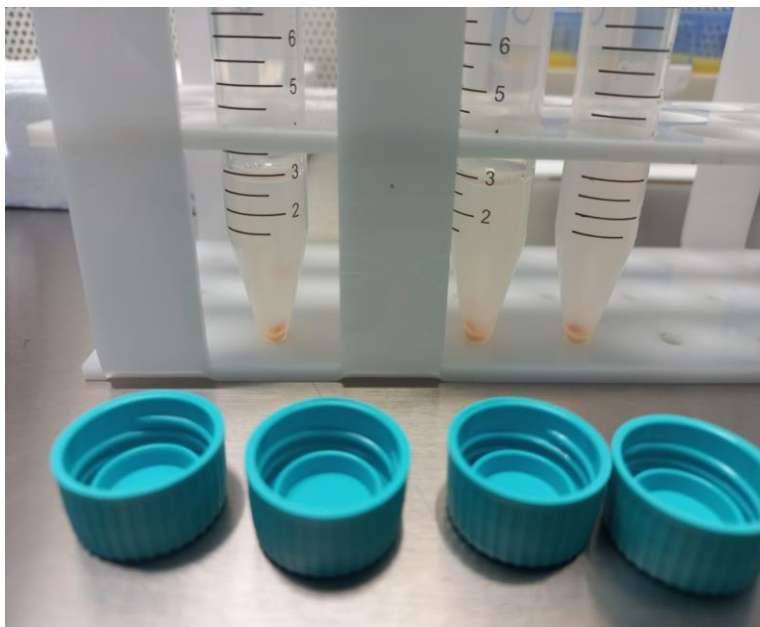



 CLÍNICA DE FERTILIDAD	PROTOCOLO PARA PREPARACION DE INMUNIZACION CON LEUCOCITOS DEL COMPAÑERO (LINFOTERAPIA)	Código	
		PS-DC-045	
Fecha de Vigencia	22/04/2022	Versión 1	Página 1 de 2

6. Centrifugue 5 minutos a 2222 a 2300 RPM.
7. Extraer el sobrenadante y dejar el sedimento.



8. Agregue al sedimento solución salina, hasta llevarlo a 3 cc del tubo.



	PROTOCOLO PARA PREPARACION DE INMUNIZACION CON LEUCOCITOS DEL COMPAÑERO (LINFOTERAPIA)		Código	
			PS-DC-045	
	Fecha de Vigencia	22/04/2022	Versión 1	Página 1 de 2

9. Mezcle con pipeta de pasteur y unir el contenido de los 4 tubos en uno solo.
10. Posteriormente centrifugue a 2222 a 2300 RPM por 3 minutos
11. Retirar el sobrenadante y dejar el sedimento.
12. Agregue 3 cc de Agua destilada, si el sedimento esta rojo para eliminar glóbulos rojos y mezclar.
13. Agregue Solución Salina hasta llegar a 12 cc del tubo.
14. Centrifugar por 3 minutos a 2222 a 2300 RPM
15. Nuevamente retire el sobrenadante y deje el sedimento
16. Agregue 2,5cc de Solución Salina
17. Llevar recuperado hasta tubo de vidrio pequeño de 3ml marcado con el nombre de los dos pacientes
18. Con micropipeta depositar 10ul en cámara makler y leer concentración de leucocitos
19. Depositar 10ul del recuperado en una lámina y agregar 10ul de eosina para leer vitalidad.
20. Hacer entrega a persona encargada de aplicación de linfoterapia.


5. LINFOTERAPIA DOBLE PATERNA.

5.1 MATERIALES PARA PREPARACION

- De 14-16 tubos cónicos de 14ml
- 2 tubos tapa azul de 50 ml
- Solución salina al 0.9%
- Agua estéril
- Reactivo Ficoll
- Pipeta de 10 ml
- Pipeteador
- Jeringa de 20 ml
- Jeringa de 5ml
- Tubo de 3ml
- Jeringa de 60cc con muestra del paciente

6. PROCEDIMIENTO LINFOTERAPIA DOBLEPATERNA

1. Diluya 30 cc de Sangre heparinizada del paciente en 20 cc de solución salina dentro de 2 tubos tapa azul de 50 ml y mezcle por inversión.
2. En 12 Tubos tapa azul de 15 ml dispensar 3 cc de Ficoll


	PROTOCOLO PARA PREPARACION DE INMUNIZACION CON LEUCOCITOS DEL COMPAÑERO (LINFOTERAPIA)	Código	
		PS-DC-045	
	Fecha de Vigencia	22/04/2022	Versión 1
			Página 1 de 2

3. En los 12 Tubos tapa azul agregar sangre de la paciente diluida en los tubos con pipeta Pasteur de 3ml hasta llegar a 12 cc.
4. Centrifugar por 10 minutos a 2100 RPM
5. Con pipeta de pasteur retira los leucocitos de cada tubo y depositar en cada uno de los 4 tubos tapa azul de 15 ml restantes (vacíos) hasta llegar a 12cc.. En caso de no llegar hasta 12cc completar con solución salina.
6. Centrifugue 5 minutos a 2222 a 2300 RPM.
7. Extraer el sobrenadante y dejar el sedimento.
8. Agregue al sedimento solución salina, hasta llevarlo a 3 cc del tubo.
9. Mezcle con pipeta de pasteur y unir el contenido de los 4 tubos en uno solo.
10. Posteriormente centrifugue a 2222 a 2300 RPM por 3 minutos
11. Retirar el sobrenadante y dejar el sedimento.
12. Agregue 3 cc de Agua destilada, si el sedimento esta rojo para eliminar glóbulos rojos y mezclar.
13. Agregue Solución Salina hasta llegar a 12 cc del tubo.
14. Centrifugar por 3 minutos a 2222 a 2300 RPM
15. Nuevamente retire el sobrenadante y deje el sedimento
16. Agregue 2,5cc de Solución Salina
17. Llevar recuperado hasta tubo de vidrio pequeño de 3ml marcado con el nombre de los dos pacientes
18. Con micropipeta depositar 10ul en cámara makler y leer concentración de leucocitos
19. Depositar 10ul del recuperado en una lámina y agregar 10ul de eosina para leer vitalidad.
20. Hacer entrega a persona encargada de aplicación de linfoterapia.

7. APLICACIÓN DE LINFOTERAPIA (CONVENCIONAL Y DOBLE PATERNA)

1. Llenar 2 jeringas de 1ml de la muestra entregada por laboratorio
2. Hacer previa asepsia en los antebrazos de la paciente
3. Tomar una jeringa y aplicar en el antebrazo de la paciente, 0.5ml de muestra en el lado derecho y 0.5ml en el lado izquierdo
4. Tomar segunda jeringa y aplicar en el otro antebrazo de la paciente, 0.5ml de muestra en el lado derecho y 0.5ml en el lado izquierdo

NOTA: Como evento adverso se puede observar una pápula que es normal al momento de aplicar la vacuna con linfocitos.

	PROTOCOLO PARA PREPARACION DE INMUNIZACION CON LEUCOCITOS DEL COMPAÑERO (LINFOTERAPIA)		Código	
			PS-DC-045	
	Fecha de Vigencia	22/04/2022	Versión 1	Página 1 de 2

8. CONTROL DE CAMBIOS

TRAZABILIDAD	FECHA	NOMBRE	CARGO
Elaborado	06-04-2022	PAOLA ACEVEDO	Bacterióloga
Reviso	06-04-2022	ANDREA DORIA P	Embrióloga
Aprobó	06-04-2022	LEONARDO MUÑOZ	Dir. Científico

Versión	Actividad	Fecha
0	Lanzamiento	06-04-2022