



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E  
HISTOPATOLÓGICO**

**TESINA DE GRADO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL  
TÍTULO DE LICENCIADO EN LABORATORIO CLÍNICO E  
HISTOPATOLÓGICO**

**TEMA**

**“SELECCIÓN DE LOS POTENCIADORES DE REACCIÓN  
PARA IDENTIFICAR ANTICUERPOS INESPECÍFICOS,  
MEDIANTE LA APLICACIÓN DE LA PRUEBA DE COOMBS  
INDIRECTO, UTILIZANDO MUESTRAS DE SANGRE DE  
PACIENTES POLI TRANSFUNDIDOS ATENDIDOS POR EL  
SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL H.P.G.D.R  
DURANTE EL PERÍODO AGOSTO 2013 A ENERO 2014.”**

**AUTOR**

**MÓNICA PATRICIA ALAJO SINGAUCHO**

**TUTOR**

**Lic. FERNANDO JARAMILLO**

**RIOBAMBA – ECUADOR**

## HOJA DE APROBACIÓN

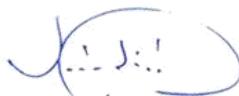
El tribunal de defensa privada conformada por el Lic. Christian Silva, Presidente del tribunal; el Lic. Fernando Jaramillo, miembro del tribunal y la Mgs. Mery Alvear, miembro del tribunal, certificamos que la señorita **MÓNICA PATRICIA ALAJO SINGAUCHO** con cédula número 060548843-6, respectivamente egresada de la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico de la Universidad Nacional de Chimborazo, se encuentra apta para el ejercicio académico de la defensa pública de la tesina previa a la obtención del título de Licenciada en Ciencias de la Salud en Laboratorio Clínico e Histopatológico con el tema de investigación: “SELECCIÓN DE LOS POTENCIADORES DE REACCIÓN PARA IDENTIFICAR ANTICUERPOS INESPECÍFICOS, MEDIANTE LA APLICACIÓN DE LA PRUEBA DE COOMBS INDIRECTO, UTILIZANDO MUESTRAS DE SANGRE DE PACIENTES POLI TRANSFUNDIDOS ATENDIDOS POR EL SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUCIONAL DEL H.P.G.D.R. DURANTE EL PERÍODO AGOSTO 2013 A ENERO 2014”.

Una vez que han sido realizadas las revisiones periódicas y ediciones correspondientes a la tesina.

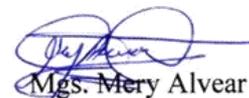
Riobamba, 23 de enero del 2015



Lic. Christian Silva  
Presidente del tribunal



Lic. Fernando Jaramillo  
Miembro del tribunal



Mgs. Mery Alvear  
Miembro del tribunal

## **DERECHOS DE AUTORÍA**

Yo Mónica Patricia Alajo Singaicho soy responsable de las ideas, criterios, pensamientos y resultados expuestos en el presente trabajo investigativo y los derechos de autoría pertenecen a la **UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO**



**Mónica Patricia Alajo Singaicho**  
**0605488436**

## ACEPTACIÓN DEL TUTOR

Por la presente, hago constar que he leído el protocolo del Proyecto de Grado presentado por la señorita Mónica Patricia Alajo Singaicho para optar el título de Licenciada en Laboratorio Clínico e Histopatológico y que acepto asesorar a la estudiante en calidad de tutor durante la etapa de desarrollo del trabajo hasta su presentación y evaluación.

Riobamba, 22 de julio del 2013



---

Lic. Fernando Jaramillo

## AGRADECIMIENTO

El presente trabajo de tesis quiero darle gracias a Dios por bendecirme para llegar hasta donde he llegado, porque hice realidad este sueño anhelado.

Mi agradecimiento profundo a la Universidad Nacional de Chimborazo por abrirme sus puertas, a la Facultad Ciencias de la Salud, a la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico que me dio la oportunidad de superarme como profesional y alcanzar mis metas propuestas

A mi tutor de tesis, LIC. Fernando Jaramillo por su esfuerzo y dedicación, quien con sus conocimientos, su experiencia, paciencia y su motivación ha logrado en mí que pueda terminar mis estudios con éxito.

También me gustaría agradecerles a mis profesores durante toda mi carrera profesional porque han aportado sus conocimientos para mi formación.

## DEDICATORIA

Dedico este trabajo principalmente a Dios, por permitirme llegar hasta este momento tan importante de mi formación profesional.

A mi padre que me dio la vida, el cual a pesar de haberlo perdido, ha estado siempre cuidándome y guiándome desde cielo.

A mi madre por demostrarme siempre su cariño sin importar nuestras diferencias de opiniones.

A mi familia en general porque me ha brindado su apoyo incondicionalmente y por compartir buenos y malos momentos.

## RESUMEN.

La identificación de anticuerpos irregulares en los servicios de Transfusión, son actividades de vital importancia para evitar complicaciones clínicas a causas de incompatibilidades feto maternas o para evitar reacciones transfusionales al administrar sangre o sus derivados. El empleo de reactivos y potenciadores de reacción han permitido mejorar la visualización y su interpretación de resultados en condiciones normales o en aquellos pacientes con titulación baja de anticuerpos, la prueba que permite la valoración de anticuerpos irregulares son las antiglobulínicas, para ello se emplea soluciones de baja fuerza iónica, medio proteicos y suero de Coombs, cada uno de estos debe ser conservados a temperaturas de refrigeración, antes de emplearlos debe ser evaluados su poder de reacción y su avidéz, para efecto de esto se ha utilizado sangre de pacientes politransfundidos atendidos en el Hospital Provincial General Docente de Riobamba, son estos pacientes donde se cuida la respuesta inmune a causa de la poli transfusión, se evaluara el tipo de anticuerpo reaccionante y la variación de tiempo y dosis del potenciador para relacionar la mejor interpretación de resultados por incremento de la intensidad de reacción. Con LISS para la realización de las pruebas de Coombs y pruebas de compatibilidad, el resultado es mejorado en la visualización de la reacción de aglutinación, no se recomienda reducir el tiempo de incubación porque permite esto enmascarar anticuerpos y los resultados serían falsos negativos, si se aumenta el efecto de dosis puede bloquear la unión antígeno anticuerpos y provocar nuevamente un falso negativo.



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**CENTRO DE IDIOMAS**

---

---

**ABSTRACT**

The identification of irregular antibodies in the Transfusion services is vital activities to prevent clinical complications caused by maternal fetal incompatibilities or to avoid transfusion reactions when blood or its derivatives are administered. The use of reactive compounds and reaction enhancers have improved the visualization and interpretation of results under normal conditions or in patients with low titer of antibodies, the test that allows assessment of irregular antibodies are antiglobulin tests, for this some solutions of low ionic strength are used, protean mean and serum of Coombs, each one of these must be kept at refrigeration temperatures, before using them. Its power of reaction and eagerness are evaluated by the means of poly transfused blood of patients treated at "Hospital Provincial General Docente de Riobamba", in these patients the immune responses because of the poly transfusion are taken into consideration. The reaction type antibody and the variation of time and dose of enhancer to relate better interpretation of results from increased the intensity of reaction are evaluated. With LISS for conducting Coombs and compatibility tests the result is improved in visualizing of the agglutination reaction. It is not recommended to reduce the incubation time because it allows masking antibodies, and the results would be negative false, if the effect of dose is increased it may block antigen binding antibodies and cause a negative false again.

Riobamba, December 16, 2014

TRANSLATION REVIEWED BY:



Lic. Dennys Tenelanda López

**ENGLISH TEACHER-UNACH**



# ÍNDICE GENERAL

TEMA .....	I
HOJA DE APROBACIÓN .....	II
DERECHOS DE AUTORÍA .....	III
ACEPTACIÓN DEL TUTOR.....	IV
AGRADECIMIENTO .....	V
DEDICATORIA .....	VI
RESUMEN.....	VII
ABSTRACT.....	VIII
ÍNDICE GENERAL.....	IX
ÍNDICE DE FIGURAS.....	XII
ÍNDICE DE TABLAS .....	XIII
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	XIV
INTRODUCCIÓN. ....	1

## CAPITULO I

<b>1. PROBLEMATIZACIÓN.....</b>	<b>3</b>
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	5
1.3. OBJETIVOS. ....	5
1.3.1. Objetivo general. ....	5
1.3.2. Objetivos específicos.....	5
1.4. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA.....	5

## CAPITULO III

<b>2. MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>9</b>
2.1. POSICIONAMIENTO PERSONAL.....	9
2.2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	9
2.2.1. Antígenos.....	9
2.2.1.1. Definición .....	9
2.2.1.2. Características. ....	10
2.2.1.3. Funciones. ....	12

2.2.1.4.	Clasificación.....	12
2.2.2.	Anticuerpos.....	14
2.2.2.1.	Generalidades.....	14
2.2.2.2.	Estructura.....	15
2.2.2.3.	Funciones.....	16
2.2.2.4.	Clasificación.....	20
2.2.3.	Grupos sanguíneos.....	24
2.2.3.1.	Sistema abo generalidades.....	24
2.2.3.1.1.	Antígenos del sistema abo.....	26
2.2.3.1.2.	Anticuerpos del sistema abo:.....	31
2.2.3.2.	Sistema Rh.....	33
2.2.3.2.1.	Antígenos del sistema rh.....	34
2.2.3.2.2.	Anticuerpos del sistema Rh:.....	41
2.2.3.3.	Sistema Lewis.....	43
2.2.3.3.1.	Antígenos del sistema Lewis.....	44
2.2.3.3.2.	Anticuerpos del sistema Lewis.....	45
2.2.3.4.	Sistema de grupo sanguíneo Kell.....	45
2.2.3.4.1.	Antígenos del sistema Kell.....	46
2.2.3.4.2.	Anticuerpos del sistema Kell.....	47
2.2.4.	Determinación de anticuerpos.....	47
2.2.4.1.	Medios de reacción antígeno – anticuerpo:.....	49
2.2.4.2.	Factores que favorecen la reacción antígeno anticuerpo.....	57
2.2.4.3.	Reacción de aglutinación.....	59
2.2.4.4.	Prueba antiglobulínica directa.....	61
2.2.4.5.	Prueba antiglobulínica indirecta:.....	62
2.3.	HIPÓTESIS Y VARIABLES.....	72
2.3.1.	Hipótesis.....	72
2.3.2.	Variables.....	72
2.4.	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....	73
CAPITULO III		
<b>3.</b>	<b>MARCO METODOLÓGICO.....</b>	<b>74</b>
3.1.	MÉTODO CIENTÍFICO.....	74

3.1.1.	Tipo de investigación .....	75
3.1.2.	Diseño de investigación.....	76
3.1.3.	Tipo de estudio.....	76
3.2.	POBLACIÓN Y MUESTRA .....	76
3.2.1.	Población .....	76
3.2.2.	Muestra .....	76
3.3.	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS .....	76

#### CAPITULO IV

<b>4.</b>	<b>ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.</b> .....	<b>78</b>
-----------	---	-----------

#### CAPITULO V

<b>5.</b>	<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.</b> .....	<b>84</b>
5.1.	CONCLUSIONES. ....	84
5.2.	RECOMENDACIONES. ....	84

BIBLIOGRAFÍA.....	86
-------------------	----

LINCOGRAFÍA. ....	88
-------------------	----

ANEXOS .....	89
--------------	----

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA Nº 1	ANTIGENOS LINEALES Y CONFORMACIONALES .....	11
FIGURA Nº 2	ANTÍGENOS UNIDOS A MOLECULAS TRANSPORTADORAS. ....	11
FIGURA Nº 3	ESTRUCTURA BÁSICA DE LA INMUNOGLOBULINA.....	15
FIGURA Nº 4	REGIONES DE LA INMUNOGLOBULINA .....	16
FIGURA Nº 5	ESTRUCTURA DE LA IGM .....	17
FIGURA Nº 6	ESTRUCTURA Y DOMINIOS DE LA IGG.....	18
FIGURA Nº 7	ESTRUCTURA Y DOMINIOS DE LA IGA .....	19
FIGURA Nº 8	ESTRUCTURA Y DOMINIOS DE LA IGE .....	19
FIGURA Nº 9	ESTRUCTURA Y DOMINIOS DE LA IGE .....	20
FIGURA Nº 10	INMUNOGLOBULINA M - NATURAL.....	21
FIGURA Nº 11	INMUNOGLOBULINA INMUNE .....	22
FIGURA Nº 12	ANTICUERPOS DE CRUCE PLACENTARIO .....	23
FIGURA Nº 13	DISTRIBUCIÓN ANTIGÉNICA DE GRUPOS SANGUINEOS ABO .....	26
FIGURA Nº 14	DISTRIBUCIÓN BIOQUIMICA DE LOS GRUPOS SANGUINEOS ABO .....	28
FIGURA Nº 15	DISTRIBUCIÓN ANTIGENO – ANTICUERPO DEL SISTEMA ABO. ....	29
FIGURA Nº 16	DEMOSTRACION DE SUBGRUPOS ABO.....	30
FIGURA Nº 17	DEMOSTRACION DE ANTICUERPOS ABO .....	32
FIGURA Nº 18	VARIANTE DU .....	36
FIGURA Nº 19	VARIANTE D PARCIAL .....	36
FIGURA Nº 20	VARIANTE D NEGATIVA .....	37
FIGURA Nº 21	SUBGRUPOS DEL ANTIGENO D. ....	38
FIGURA Nº 22	ANTIGENOS MAYORES Y MENORES RH EN TRANSFUSIONES .....	40
FIGURA Nº 23	FORMACION DE ANTICUERPOS IRREGULARES POR TRANSFUSIONES RH.....	42
FIGURA Nº 24	ESTRUCTURA BIOQUÍMICA DEL SISTEMA LEWIS. ....	44
FIGURA Nº 25	ANTICUERPOS DEL SISTEMA LEWIS.....	45
FIGURA Nº 26	ANTIGENOS DEL SISTEMA KELL.....	46
FIGURA Nº 27	ANTICUERPOS DEL SISTEMA KELL .....	47
FIGURA Nº 28	SOLUCIÓN SALINA 0.9% .....	49
FIGURA Nº 29	SOLUCIÓN DE BAJA FUERZA IÓNICA .....	51
FIGURA Nº 30	ALBUMINA BOVINA .....	52
FIGURA Nº 31	SUERO DE COOMBS .....	54
FIGURA Nº 32	REACCIÓN DE AGLUTINACIÓN .....	60
FIGURA Nº 33	HEMATÍES SENSIBILIZADOS .....	63

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA Nº 1	REGISTRO DE LA CADENA DE FRIO PARA CONSERVAR LOS POTENCIADORES EMPOLEADOS EN LAS PRUEBAS ANTIGLOBULÍNICAS.....	78
TABLA Nº 2	REGISTRO DE LA VALORACIÓN DE LA INTENSIDAD DE REACCIÓN DE LOS POTENCIADORES UTILIZADOS EN LAS PRUEBAS ANTIGLOBULÍNICAS.....	79
TABLA Nº 3	REGISTRO DE PRUEBAS ANTIGLOBULINICAS DIRECTAS Y SU RELACIÓN CON LA INTENSIDAD DE REACCION EMPLEANDO ALBÚMINA BOVINA.....	81
TABLA Nº 4	REGISTRO DE ENSAYOS ANTIGLOBULINICOS INDIRECTOS CON EL EMPLEO DE LISS INCUBADOS A 37 °C, VARIANDO EL EFECTO DE DOSIS Y TIEMPO DE INCUBACIÓN.....	82
TABLA Nº 5	COMPARACIÓN DE LA INTENSIDAD DE REACCIÓN CON ALBUMINA BOVINA Y LISS.....	83

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICA Nº 1	REPRESENTACIÓN GRAFICA DEL REGISTRO DE LA CADENA DE FRIO .....	78
GRÁFICA Nº 2	REPRESENTACIÓN GRAFICA DE LA VALORACIÓN DE LA INTENSIDAD DE REACCIÓN DE LOS MEDIOS DE REACCIÓN. ....	80
GRÁFICA Nº 3	REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LA PRUEBA ANTIGLOBULÍNICA DIRECTA CON EL EMPLEO DE ALBÚMINA BOVINA .....	81
GRÁFICA Nº 4	REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LOS ENSAYOS ANTIGLOBULÍNICOS AL EMPLEAR LISS CON EFECTOS DE DOSIS Y TIEMPOS DE INCUBACIÓN DIFERENTE. ....	82
GRÁFICA Nº 5	RELACIÓN DE INTENSIDAD CON ALBÚMINA LISS .....	83

## INTRODUCCIÓN.

En la Inmunohematología se ha desarrollado una amplia gama de procedimientos que permiten la detección o identificación de anticuerpos contra los eritrocitos, sean estos por su estímulo naturales o irregulares.

Los procedimientos in vitro en las que se revisa técnicas minuciosamente, se procede a la selección de medios de reacción o potenciadores que faciliten en los ensayos en encuentro antígeno anticuerpo y sean determinados su presencia por la reacción de hemaglutinación.

Para identificar a estos anticuerpos, se requieren del empleo, de eritrocitos, pre tratados, esto significa, que tienen en su membrana antígenos que derivan de varios sistemas de grupos sanguíneos, de procedencia química diversa, que reaccionan con los anticuerpos específicos, algunos de estructuras simples y otros de estructuras complejas.

Dependiendo de la exposición al antígeno se genera mayor o menor concentración del anticuerpo en el organismo, la transferencia de anticuerpos, es otra forma de que ingrese al organismo, mediante la transfusión de productos derivados del plasma y que afecten, a la sobrevivencia del eritrocito.

La aglutinación tiene lugar cuando el anticuerpo fijado se une a los hematíes adyacentes formando grumos, para que la sensibilización produzca aglutinación visible, evento que no siempre ocurre, es preciso que la porción Fab del anticuerpo puede unirse a los hematíes adyacentes, para lo cual éstos deberán estar suficientemente próximos.

La alteración antígeno – anticuerpo requiere de dos requisitos importantes, uno de estos, es la adecuada complementariedad de encaje,

donde el anticuerpo solo se unirá a los antígenos que tienen encajes específicos, y que se ajusten al sitio de combinación, con el anticuerpo.

El otro requisito es la complementariedad de cargas, las cargas opuestas al antígeno y al anticuerpo, crean fuerzas de atracción, mientras que fuerzas iguales crean fuerzas de repulsión.

Una vez que se forma los complejos antígeno – anticuerpo, las fuerzas que los mantienen unidos, no son interacciones covalentes, son interacciones interatómicas, débiles que mantienen al antígeno y al anticuerpo en un contacto muy cercano, capaz de desarrollar fuerzas que estabilizan la unión del complejo como las interacciones iónicas, puentes de hidrógeno, fuerzas de Van del Waals e interacciones hidrofóbicas.

Los eritrocitos se aglutinan en dos etapas, en la primera el anticuerpo se une físicamente, al antígeno en los eritrocitos, provocando la sensibilización, en la segunda etapa, los eritrocitos a los cuales los anticuerpos se unieron, aglutinan formando puentes entre ellos, para crear una estructura de enrejado, que constituyen la aglutinación, para facilitar este proceso, se requiere de factores físicos y químicos, dentro de estos se habla de los potenciadores que facilitan el encuentro y la reacción siempre y cuando el anticuerpo, sea el específico de anclaje al eritrocito, facilitando la interpretación de lectura, los ensayos y prevenciones de reacciones, en el diagnósticos de anemias hemolíticas, enfermedades neonatales por incompatibilidades sanguíneas y reacciones ante la transfusión de sangre o derivados.

# CAPITULO I

## 1. PROBLEMATIZACIÓN

### 1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El ministerio de Salud Pública vela por el sistema nacional de salud en el Ecuador garantizando la seguridad ambiental y el acceso a los servicios básicos de salud con el propósito de preservar vidas, poniendo al servicio la prestación de modernos procedimientos de atención en salud, uno de ellos se lo realiza a través del sistema de referencia y contra referencia que es una herramienta esencial en la categorización de los niveles o prioridades y sin lugar a dudas el banco de sangre ha sido uno de los pioneros en este sistema, puesto que las transfusiones es una labor intensa, sofisticada, importante, costosa pero necesaria, que salva muchas vidas. El trabajo en esta área crítica demanda la prolijidad en cada uno de sus protocolos para evitar errores que puedan provocar reacciones transfusionales tempranas o tardías que puede ser causado por efectos físicos o por mecanismos inmunológicos, los cuales se basan en la determinación de anticuerpos anti- eritrocitarios empleando métodos in vitro apropiados.

Usualmente se emplean múltiples técnicas para la detección de anticuerpos eritrocitarios, una de ellas es el tratamiento enzimático de los eritrocitos con proteasas. Esta técnica es mucho más sensible que otras en las que no se utilizan eritrocitos pre tratados enzimáticamente, especialmente en la detección de anticuerpos Rh y otros anticuerpos que sólo reaccionan anti eritrocitos pre tratados.

A pesar de las ventajas que brinda el uso de potenciadores, es importante alertar en relación con su uso como rutina en la detección de anticuerpos eritrocitarios.

Los eritrocitos pre tratados con enzimas pueden detectar anticuerpos fríos y otros anticuerpos que no son clínicamente insignificativos, además

existe muy poca correlación entre la presencia pre transfusional de anticuerpos detectables únicamente por métodos enzimáticos, y el desarrollo de anticuerpos demostrables por otros métodos, días o semanas después de la transfusión.

Dos de las técnicas que deben emplearse como rutina en la evaluación de anticuerpos eritrocitarios son: el método proteico y el de LISS. Estos métodos consumen menos tiempo, dinero que los métodos enzimáticos, es necesario comentar que la técnica del LISS sólo debe realizarse a 37 °C, ya que a temperatura ambiente se pueden detectar anticuerpos que no tienen repercusión clínica, de forma contraria, el método proteico (albumina) se realiza a temperatura ambiente y tiene como ventaja el detectar predominantemente anticuerpos que son activos a 37 °C por otros métodos.

En la técnica el tiempo de incubación debe ser el mínimo, para no detectar anticuerpos fríos sin significación clínica, la prueba de antiglobulina indirecta (PAI) emplea anticuerpos contra las globulinas humanas (AGH) denominado reactivo antiglobulínico poliespecífico (anti-IgG y anti-C3) y eritrocitos suspendidos en solución salina.

La prueba antiglobulínica directa (PAI) es un proceder altamente favorecido por la mayoría de los investigadores que se desempeñan en esta especialidad y no sólo es útil para detectar o identificar anticuerpos, sino que también se utiliza para tipificar la sangre y en las pruebas de compatibilidad.

Seleccionar el medio potenciador de la reacción, es vital en las pruebas inmunohematológicas, debido a que el resultado obtenido, facilitara transfusiones inmediatas, suspensión de las mismas, tratamiento en la incompatibilidades feto maternas y la búsqueda de componentes sanguíneos, compatibles y alternativos de transfusión.

## 1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.

¿Los potenciadores de reacción mejoran la identificación de anticuerpos inespecíficos, mediante la aplicación de la prueba de coombs indirecto, utilizando muestras de sangre de pacientes poli transfundidos atendidos por el servicio de medicina transfusional del H.P.G.D.R durante el periodo agosto 2013 a enero 2014?

## 1.3. OBJETIVOS.

### 1.3.1. Objetivo general.

Seleccionar el potenciadores de reacción apropiado para identificar anticuerpos inespecíficos mediante la aplicación de la prueba de Coombs indirecto, utilizando muestras de sangre de pacientes poli transfundidos, atendidos por el servicio de medicina transfusional del H.P.G.D.R durante el periodo Agosto 2013 a Enero 2014.

### 1.3.2. Objetivos específicos.

- Comprobar que los medios de reacción utilizados en las pruebas antiglobulínicas, sean preservados a temperaturas óptimas mediante el control y registro de la cadena de frío.
- Valorar la intensidad de reacción de los potenciadores empleados en las pruebas de Coombs, mediante el ensayo de titulación y avidéz para comprobar la eficacia de estos potenciadores.
- Seleccionar el medio de reacción apropiado mediante el incremento del título de reacción al identificar anticuerpos inespecíficos mediante la prueba de Coombs.

## 1.4. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA.

El ministerio de Salud Pública vela por el sistema nacional de salud en el Ecuador garantizando la seguridad ambiental y el acceso a los servicios básicos de salud con el propósito de preservar vidas, poniendo al servicio la prestación de modernos procedimientos de atención en salud, uno de

ellos se lo realiza a través del sistema de referencia y contra referencia que es una herramienta esencial en la categorización de los niveles o prioridades y sin lugar a dudas el banco de sangre ha sido uno de los pioneros en este sistema, puesto que las transfusiones es una labor intensa, sofisticada, importante, costosa pero necesaria, que salva muchas vidas. El trabajo en esta área crítica demanda la prolijidad en cada uno de sus protocolos para evitar errores que puedan provocar reacciones transfusionales tempranas o tardías que puede ser causado por efectos físicos o por mecanismos inmunológicos, los cuales se basan en la determinación de anticuerpos anti- eritrocitarios empleando métodos in vitro apropiados.

La Medicina Transfusional es una herramienta muy importante en todas las áreas de la medicina, los concentrados eritrocitarios funcionan como un mecanismo auxiliar en el proceso respiratorio de pacientes a quienes una condición patológica les impide elaborar eficientemente sus propias células sanguíneas, o bien, en pacientes con pérdida sanguínea grave en quienes el vital líquido es requerido para recuperar o mantener el equilibrio del cuerpo. No obstante su utilidad, se reconocen efectos nocivos ocasionados por reacciones transfusionales, cuya aparición puede ser inmediata o tardía.

El efecto inmediato va de leve a grave y se puede manifestar en forma de urticaria, fiebre o choque anafiláctico, se atribuye a factores tales como la contaminación bacteriana del componente transfundido o la respuesta inmune debida a la introducción de un antígeno desconocido por el paciente, esta respuesta se debe a anticuerpos contra las diferentes células sanguíneas, de tal forma que se identifican anticuerpos contra antígeno, componentes leucocitarios, plaquetarios, eritrocitarios o del sistema HLA.

Entre los anticuerpos anti eritrocitos el más nocivo es el que provoca la incompatibilidad por sistema ABO: ha ocasionado aproximadamente 40 % de las muertes por incompatibilidad. Los generadores de este problema

son la confusión al asignar la bolsa de sangre al paciente y el etiquetado equivocado de las muestras para las pruebas pre transfusionales

Para conocer la naturaleza de los anticuerpos presentes en una reacción transfusional es muy importante disponer de todos los antecedentes que de alguna manera afectan o provocan la producción de los mismos, tales como los transfusionales y cuando se habla de mujeres, los Gineco obstétricos, para indagar respecto a una probable enfermedad hemolítica del recién nacido.

Desde el punto de vista de la medicina transfusional, los anticuerpos contra antígenos sanguíneos se clasifican como:

Anticuerpos contra aloantígenos: los que se producen contra antígenos de eritrocitos, leucocitos y plaquetas.

Anticuerpos contra los propios antígenos del individuo: auto anticuerpos contra antígenos, eritrocitos y plaquetas, y los producidos en enfermedades autoinmunes, como las de la colágeno.

Anticuerpos autoinmunes como anticuerpos irregulares o adquiridos, y dividir a los aloanticuerpos de la siguiente forma:

Regulares naturales: los producidos contra el sistema ABO (anti-A y anti-B). Irregulares naturales: anti A1, anti-M, anti-N, anti-P1. anti-E, entre otros. Irregulares adquiridos o inmunes: anti sistema RhHr (anti-D. anti-c, anti-C, y otros), anti-Kell, anti-Duffy. Su identificación o determinación aporta a la reducción de las reacciones transfusionales, tratamiento hemoterapéutico en las incompatibilidades sanguíneas feto – maternas y en la búsqueda de las alternativas transfusionales.

La selección de potenciadores para pruebas antiglobulínicas con objetivos de identificar anticuerpos irregulares, deben ser basados en la titulación de reacción a relación de la carga de anticuerpos que podrían estar presentes, los tiempos de incubación y la cantidad de este medio que se dispensen en las muestras son parámetros de evolución importante en la

selectividad, considerando el consumo de estos medios por pruebas realizadas, versus el costo y tiempo de ejecución.

## **CAPITULO III**

### **2. MARCO TEÓRICO.**

#### **2.1. POSICIONAMIENTO PERSONAL.**

La teoría del conocimiento o creencia, es lo que conlleva al trabajo de esta investigación en el cual se elabora basando o partiendo del conocimiento del pragmatismo considerado la relación teórica y práctica, para alcanzar los objetivos finales de este proceso investigativo.

#### **2.2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.**

##### **2.2.1. Antígenos.**

##### **2.2.1.1. Definición**

Se denomina antígeno a toda sustancia que introducida en un individuo desencadena una respuesta inmune. Todos los microorganismos, virus, bacterias, parásitos y hongos, generan respuestas inmunes, por lo que en el sentido más amplio todos se comportan como antígenos. Para desencadenar una respuesta inmune el antígeno debe ser reconocido por un receptor linfocitario, en la superficie de un linfocito B o en la de un linfocito T. Aquella porción específica del antígeno reconocida por el sitio de combinación de un anticuerpo o por el receptor T, se denomina epítopo o determinante antigénico. Los determinantes antigénicos constituyen porciones muy pequeñas del antígeno, de manera que unos pocos aminoácidos están involucrados en la interacción con un anticuerpo. Por lo tanto una proteína extraña tiene varios determinantes antigénicos y generará una respuesta inmune policlonal, es decir, con la producción de anticuerpos contra sus diversos epítomos. Hay moléculas estructuralmente muy sencillas que pueden unirse a un anticuerpo y que, sin embargo, por sí solas no son capaces de inducir la formación de los mismos. Estas moléculas se denominan haptenos. Para que un hapteno sea inmunógeno es necesario unirlo covalentemente a una macromolécula apropiada, que cumple las veces de transportador

(carrier). En una proteína, un anticuerpo podrá unirse a un determinante antigénico lineal o continuo, resultante de unos pocos aminoácidos contiguos en la secuencia primaria; de una manera alternativa, un anticuerpo puede reconocer un epítipo conformacional, constituido por residuos distantes en las secuencias primarias pero cercanas en la estructura terciaria (espacial). Los linfocitos B reconocen antígenos (nativos y libres) mediante su inmunoglobulina de superficie (BCR). Por el contrario, el receptor TCR (linfocitos T) no es capaz de reconocer antígenos nativos y libres, sino que siempre los reconoce en superficies celulares. El TCR está estructuralmente diseñado para reconocer péptidos pequeños transportados y presentados por moléculas del MHC (procesamiento antigénico), por el cual se generan péptidos pequeños a partir de una macromolécula compleja. El antígeno es el principal regulador de la respuesta inmune pues la activa, ésta respuesta elimina el antígeno y cesa una vez desaparecido el antígeno<sup>1</sup>

#### 2.2.1.2. Características.

La producción de una adecuada respuesta inmune requiere de una determinada concentración del antígeno, muy poca cantidad o grandes cantidades puede alterar la respuesta, así pequeñas dosis inoculadas de manera repetitiva puede inducir a una tolerancia de igual manera la introducción o producción de grandes cantidades puede inducir a la parálisis inmunológica.

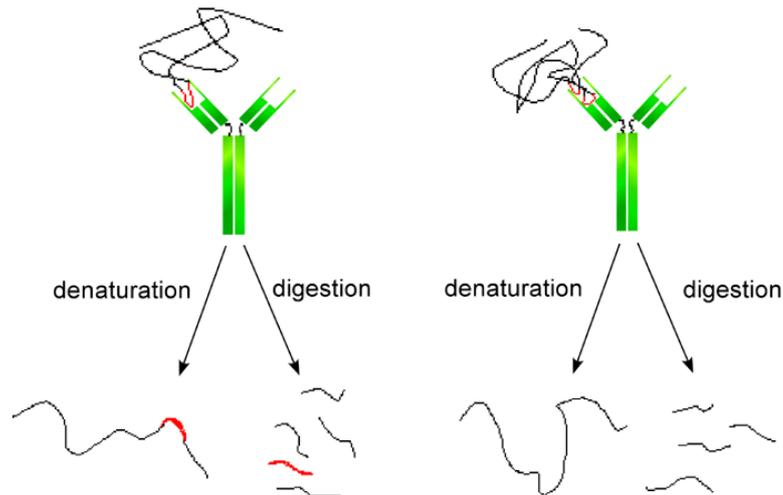
**ORIGEN.-** El poder del antígeno para inducir la respuesta inmune se da por cuanto más extraño sea para el organismo en el cual se introduce, un antígeno para una determinada especie puede ser débilmente inmunogénico, esta inducida a otra especie puede ser altamente inmunogénico.

---

<sup>1</sup> . (<http://www.ehu.es/~oivmoral/IOtema4.html>).

**COMPLEJIDAD DE LA MOLÉCULA.**-La molécula antigénica mientras más compleja sea mayor será su capacidad o respuesta de inducir a una respuesta inmune, polipéptidos lineales son más débiles como antígenos a relación de polipéptidos de igual peso molecular pero con ramificaciones en su cadena

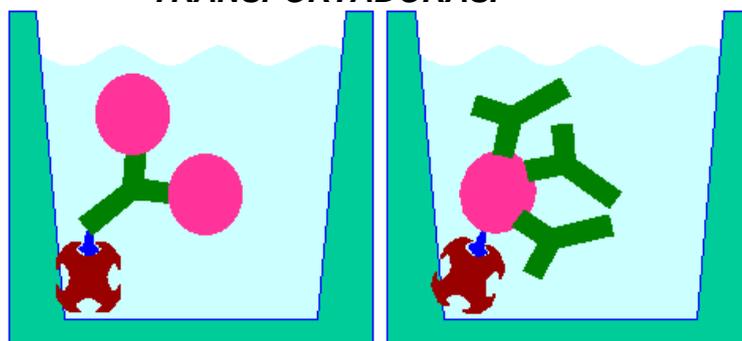
**FIGURA Nº 1 ANTÍGENOS LINEALES Y CONFORMACIONALES**



FUENTE: <https://roslab.org/services/epitome/background.html>

**TAMAÑO DE LA MOLÉCULA.**- Las molécula de peso mayo a 5.000 Da rara vez son inmunógenos, salvo el caso cuando están unidas a una proteína transportadora, a diferencia de las moléculas de peso a 100.000 Da, suelen ser potentes inmunógenos.

**FIGURA Nº 2 ANTÍGENOS UNIDOS A MOLÉCULAS TRANSPORTADORAS.**



FUENTE: <http://html.rincondelvago.com/tecnica-inmunohistoquimica.html>

**GRUPOS QUÍMICOS.-** La estructura química de los antígenos le da la particularidad de ser más o menos inmunógeno, las de estructura proteica son más inmunógenos frecuentemente.

**CARGA ELÉCTRICA.-** Las moléculas antigénicas que tienen cargas eléctricas son frecuentemente más inmunógenas a diferencia de las que son de carga neutra<sup>2</sup>

#### 2.2.1.3. Funciones.

Como en su mayoría son sustancias proteicas, lípidos o ácidos nucleicos pueden tener propiedades específicas, las cuales las hacen una clara diferencia, bajo condiciones apropiadas pueden inducir a la formación de anticuerpos, los cuales reaccionan de manera específica con el antígeno estimulante.

Así cuando se inocula por vía parenteral una proteína en otro organismo que no lo posee, el animal o receptor lo reconoce como extraño y puede producir anticuerpos contra él, esta propiedad se la conoce como inmunogenicidad y se la define como la capacidad que tiene un antígeno en estimular la formación de anticuerpos, el cual reaccionara con el antígeno que lo formo pero no reaccionara con otro, lo que determina su especificidad<sup>3</sup>.

#### 2.2.1.4. Clasificación

### TIPOS DE ANTÍGENOS

**Xenoantígenos:** Son Ag o inmunógenos que se origina en una especie diferente a la inmunizada.

**Haloantígenos:** son los que provienen de un individuo de la misma especie pero diferente genéticamente.

---

<sup>2</sup> (WILIAM ROJAS M. INMUNOLOGÍA, 13 EDICIÓN, CAP. 9 ANTÍGENOS, PÁG. 109 – 116).

<sup>3</sup> (DR. JESÚS LINARES, INMUNOHEMATOLOGÍA APLICADA EN BANCOS DE SANGRE, CAPITULO 1 PÁG. 10-20)

**Autoantígenos:** Están presentes en las células de un mismo individuo contra el cual se desarrollan anticuerpos, el individuo adquiere estos antígenos durante la vida fetal, durante la primera semana de vida el organismo tolera, pero por procesos físicos, químicos o infecciosos, se rompen la tolerancia y se da la respuesta inmunológica produciendo las enfermedades autoinmunes (LES).

**Antígenos Órgano específico:** Están presente en diferentes órganos como en el ojo: cristalino, tiroides: tiro globulina, glándulas suprarrenales, los anticuerpos producidos contra ellos permite detectar proteínas propias de cada órgano esto facilita el empleo de anticuerpos inmunoflorescentes para detectar procesos autoinmunes. Ej. Plasma que contenga anticuerpos contra epitelio intestinal, se puede acudir al empleo de cortes histológicos de estos órganos (conejo) estos cortes se pone en contacto con el plasma y si tiene anticuerpos estos se fijan al Ag, esto es un proceso de inmunoflorescencia indirecta que evidencia la presencia de anticuerpos contra procesos auto inmunes sin necesidad de biopsias humanas.

**Antígenos de los eritrocitos:** Permiten clasificar a los grupos y subgrupos sanguíneos de acuerdo a la proteína presente en la membrana del hematíe, que han sufrido o modificaciones.

**Antígenos Específicos de especie:** Están presentes en los individuos de una misma especie y difieren de los antígenos de otra especie.

**Antígenos Ocultos:** Cristalinos por falta de irrigación sanguínea/o linfática, el cerebro por la barrera hemato encefálica y el testículo por su barrera de células de Sertoli tienen Ags que están fuera del conducto del sistema inmune específico, pero traumatismo pueden poner en contacto proteínas con el sistema inmune.

**Antígenos de Leucocitos:** estos se encuentran en casi todas las células nucleadas son de importancia en la inmunogenética y en el control de la respuesta inmune.

**Antígenos Tumorales:** muchos tumores presentan en la membrana de sus células, moléculas específicas que pueden ser reconocidas como Ags por el sistema inmune.

**Antígenos Alérgicos:** son moléculas que inducen a una respuesta inmune en individuos dispuestos genéticamente Ej. La IgE produce respuesta inflamatoria aguda<sup>4</sup>

2.2.2. Anticuerpos.

2.2.2.1. Generalidades.

El sistema inmunitario de nuestro cuerpo produce anticuerpos cuando detecta elementos dañinos, llamados antígenos. Un antígeno es una sustancia ajena al cuerpo que el sistema inmunológico reconoce como una amenaza. Algunos ejemplos de antígenos son las toxinas de las bacterias y los virus, así como los agentes químicos externos perjudiciales para la salud.

Cuando el cuerpo detecta antígenos se induce una respuesta inmunitaria con la formación de anticuerpos, como forma de defensa. Los anticuerpos, también denominados inmunoglobulinas, son usados por el sistema inmunológico para identificar y neutralizar estas sustancias extrañas al cuerpo. Los anticuerpos los sintetizan un tipo de leucocito llamado linfocito B.

Los anticuerpos (Ac) son glicoproteínas que forma el organismo como respuesta al contacto con un antígeno y que reacciona específicamente a él.

---

4 .(WILIAM ROJAS M. INMUNOLOGÍA, 13 EDICIÓN, CAP. 9 ANTÍGENOS, PÁG. 109 – 116).

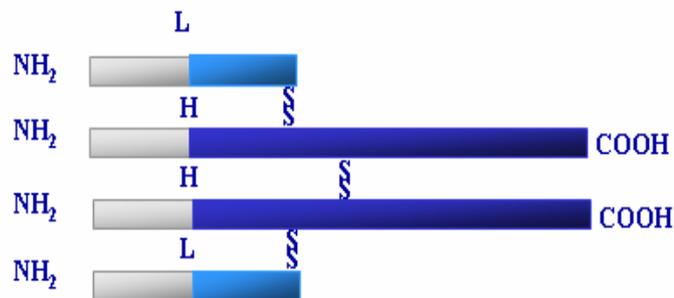
Se les llama también inmunoglobulina (Ig), ya que en las electroforesis migran junto a otras globulinas.

#### 2.2.2.2. Estructura.

Cada unidad está compuesta por cuatro cadenas polipeptídicas unidas entre sí por puentes disulfuro y otras uniones de tipo no covalente.

Para su estudio se han empleado diferentes procedimientos. Por ejemplo, tras la rotura de los puentes disulfuro por sustancias de carácter reductor, como el mercaptoetanol, se individualizan las cuatro cadenas polipeptídicas y éstos atendiendo a su tamaño, donde dos tipos: de bajo peso molecular (aproximadamente 22 KD) y de alto peso molecular (50-70 KD, dependiendo del tipo de Ig). Los polipéptidos de bajo peso molecular reciben el nombre de cadenas ligeras o cadenas L (Light) y las de alto peso molecular, cadenas pesadas o cadenas H (Heavy)

**FIGURA Nº 3 ESTRUCTURA BÁSICA DE LA INMUNOGLOBULINA**



FUENTE: <http://exa.unne.edu.ar/bioquimica/inmunoclinica/documentos/Antigenos.pdf>

En su parte proteica están formadas por cuatro cadenas polipeptídicas unidas entre sí por enlaces covalentes y puentes disulfuro intercatenarios.

Dos de estas cadenas son pequeñas o ligeras (L) y las otras son grandes o pesadas (H).

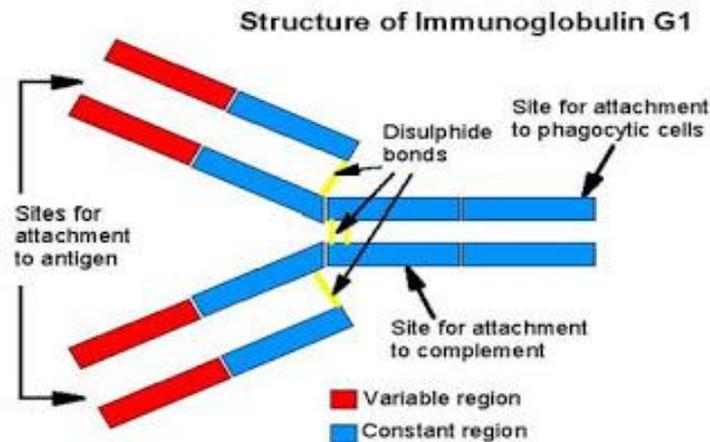
Las variaciones isotópicas de las cadenas pesadas dan lugar a los cinco tipos de Ig que se conocen: IgG, IgM, IgA, IgD, y la Ig E.

También hay dos tipos de isotipos de las cadenas ligeras, Kappa y Lambda, que pueden estar asociadas a cualquiera de los isotipos de las cadenas pesadas.

#### 2.2.2.3. Funciones.

La respuesta efectora humoral está a cargo de las inmunoglobulinas o anticuerpos que son moléculas secretadas por células plasmáticas. Existen cinco clases de inmunoglobulinas: IgM, IgG, IgA, IgE e IgD, formadas por una unidad básica compuesta de dos cadenas polipeptídicas globulares pesadas y dos cadenas livianas unidas entre sí por puentes disulfuro (A). Ambas cadenas presentan una zona constante (c) y una zona variable (v). En esta última, se encuentra una zona híper variable formada por 10 a 15 aminoácidos que conforman el receptor idiotípico (r) responsable de la unión con el epítopo presente en el antígeno.

**FIGURA Nº 4 REGIONES DE LA INMUNOGLOBULINA**



FUENTE: [http://clasedeinmunologia.blogspot.com/2007\\_05\\_01\\_archive.html](http://clasedeinmunologia.blogspot.com/2007_05_01_archive.html)

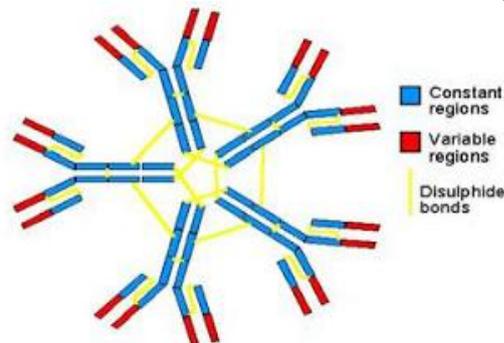
Al ser sometida a digestión por papaína, esta molécula genera dos fragmentos, el fragmento Fab responsable de la unión con antígeno y el fragmento Fc que determina diversas funciones biológicas en las diferentes inmunoglobulinas. El fragmento Fab está formado por una región constante y una región variable de una cadena pesada y de una

cadena liviana. El fragmento Fc está formado sólo por regiones constantes de cadenas pesadas.

Las clases de inmunoglobulinas están determinadas por los diferentes isotipos de las cadenas pesadas. Estas pueden ser mu, gamma, alfa, delta o épsilon. Las cadenas livianas pueden ser kappa o bien lambda.

Las distintas clases de inmunoglobulinas presentan diversas funciones biológicas.

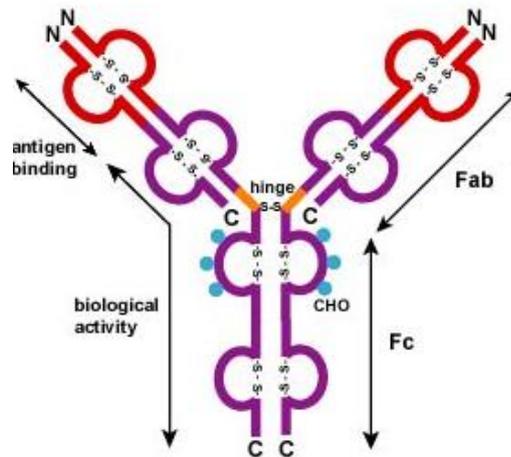
**FIGURA Nº 5 ESTRUCTURA DE LA IgM**



FUENTE: [http://clasedeinmunologia.blogspot.com/2007\\_05\\_01\\_archive.html](http://clasedeinmunologia.blogspot.com/2007_05_01_archive.html)

La IgM está formada por cinco unidades básicas de inmunoglobulina unidas entre sí por una pieza J y se encuentra presente en el plasma. Tiene diez sitios de unión con antígeno y es secretada principalmente en respuestas humorales primarias timo dependientes y en respuestas timos independientes. Es de baja afinidad pero presenta gran avidéz por antígenos multivalentes especialmente bacterianos. Es una potente fijadora del complemento, al presentar cinco fragmentos Fc que unen al factor del complemento C1q. La IgM se encuentra también en la membrana de linfocitos B en forma de monómero, constituyendo los receptores idiotípicos de estas células.

**FIGURA Nº 6 ESTRUCTURA Y DOMINIOS DE LA IgG**

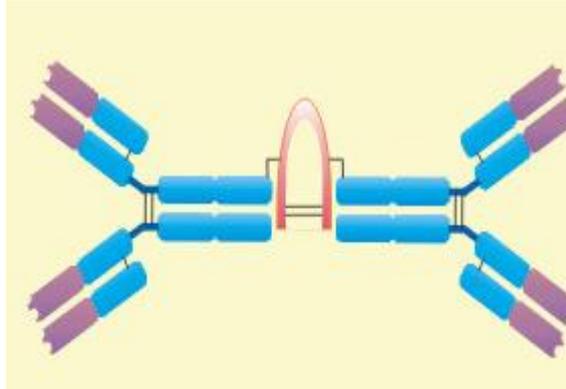


FUENTE: <http://patoral.umayor.cl/patoral/wp-content/uploads/2013/09/apunte-inmunologia131.jpg>

La IgG es la inmunoglobulina más abundante en el plasma, es monomérica y es producida en grandes cantidades durante respuestas secundarias a antígenos timo dependientes. Sus principales funciones biológicas incluyen fijación del complemento, unión a receptores para Fc en células fagocíticas al opsonizar partículas durante la fagocitosis y unión a receptores en células NK durante la citotoxicidad mediada por anticuerpos (ADCC). Esta inmunoglobulina atraviesa la placenta confiriendo protección al feto durante el embarazo.

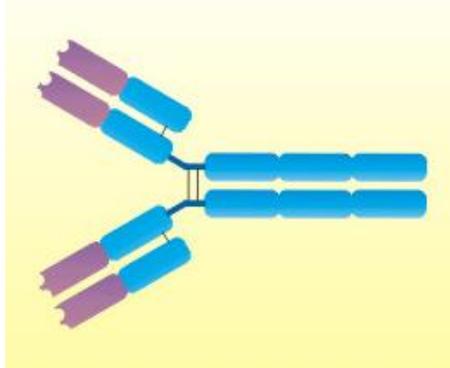
La IgA se encuentra en lágrimas, leche, saliva y mucosa de los tractos intestinal y digestivo. Está formada por dos unidades básicas unidas por una pieza secretora sintetizada por las células epiteliales de las mucosas. Esta pieza secretora es un polipéptido responsable del transporte de la IgA a través del epitelio. Además la protege de la acción de enzimas proteolíticas presentes en las secreciones. Es sintetizada en grandes cantidades por a cúmulos linfoides y placas de Peyer del intestino. No fija complemento ni es opsonina, sin embargo su importancia es enorme al impedir el ingreso de microorganismos y macromoléculas al organismo.

**FIGURA Nº 7 ESTRUCTURA Y DOMINIOS DE LA IgA**



FUENTE: <http://recursostic.educacion.es/ciencias/biosfera/web/alumno/2bachillerato/inmune/contenidos11.htm>

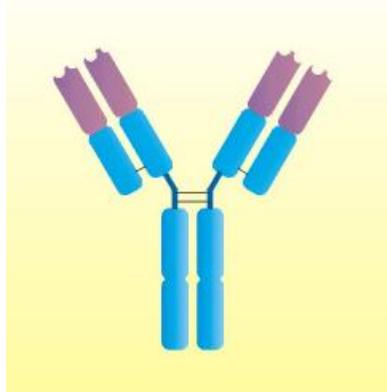
**FIGURA Nº 8 ESTRUCTURA Y DOMINIOS DE LA IgE**



FUENTE: <http://recursostic.educacion.es/ciencias/biosfera/web/alumno/2bachillerato/inmune/contenidos11.htm>

La IgE se encuentra en muy bajas concentraciones en el suero de personas normales, y en mayores concentraciones en individuos atópicos. En estos últimos es responsable de los cuadros de hipersensibilidad mediada por un mecanismo de daño inmunológico tipo I de la clasificación de Gell y Coombs. El fragmento Fc de estas inmunoglobulinas presenta gran afinidad por receptores para Fcepsilon en células cebadas y basófilos. Al estar ubicada en su superficie y recibir el estímulo antigénico, la IgE induce su degranulación iniciando un proceso inflamatorio y produciendo la contracción del músculo liso. En condiciones normales, esta inmunoglobulina interviene en la respuesta inmune protectora contra parásitos especialmente helmintos.

### **FIGURA Nº 9 ESTRUCTURA Y DOMINIOS DE LA IgE**



**FUENTE:**<http://recursostic.educacion.es/ciencias/biosfera/web/alumno/2bachillerato/inmune/contenidos11.htm>

La IgD es una inmunoglobulina unida a membrana de los linfocitos B. Su presencia en conjunto con IgM confiere inmuno competencia a estos linfocitos, está prácticamente ausente en el suero<sup>5</sup>.

#### 2.2.2.4. Clasificación.

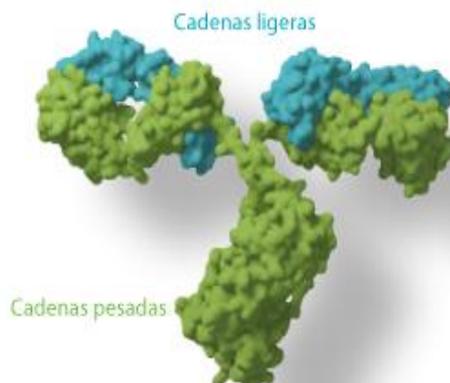
### **ANTICUERPOS NATURALES**

Son inmunoglobulinas que aparecen independientemente de cualquier tipo de estímulo y generalmente son IgM. Los anticuerpos IgM constituyen alrededor del 8% de las inmunoglobulinas totales. Son mucho más grandes que los Ig y tienen un peso molecular de 900.000. No pueden atravesar la placenta, de manera que no provocan enfermedad hemolítica del recién nacido. Aglutina con facilidad los glóbulos rojos suspendidos en solución salina y su sobrevivencia es de apenas 10 días. Durante las reacciones antígeno-anticuerpo, a menudo activan el complemento y en consecuencia, causan hemólisis de los eritrocitos, más que aglutinación.

---

<sup>5</sup> (LEONARDO FAINBOIM / JORGE GEFFNER, INTRODUCCIÓN A LA INMUNOLOGÍA HUMANA, CAP. 5, PÁG., 229 - 315

## FIGURA Nº 10 INMUNOGLOBULINA M - NATURAL

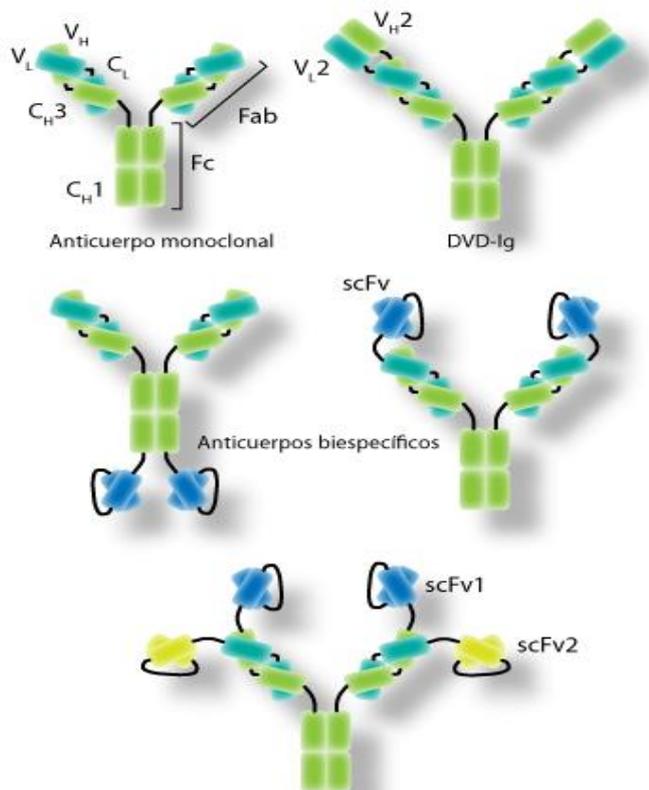


FUENTE: <http://biotechspain.com/es/tema.cfm?iid=1101tema>

### ANTICUERPOS INMUNES

Aparecen después de una estimulación antigénica y suelen ser Ig G. Los anticuerpos Ig constituyen alrededor del 73% de las inmunoglobulinas totales. Tienen un peso molecular de sólo 150.000. Por su tamaño, atraviesan con facilidad la placenta y en consecuencia, a menudo se asocian a un cuadro denominado enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN). Este problema tiene lugar cuando los anticuerpos maternos cruzan la placenta y atacan a los eritrocitos fetales que poseen los antígenos correspondientes. Los anticuerpos IgG no causan aglutinación de los glóbulos rojos antigénicos suspendidos en solución salina; sólo los recubren y sensibilizan. La sobrevivencia de la Ig es de 60 - 70 días.

**FIGURA Nº 11 INMUNOGLOBULINA INMUNE**



FUENTE: <http://biotechspain.com/es/tema.cfm?iid=1101tema>

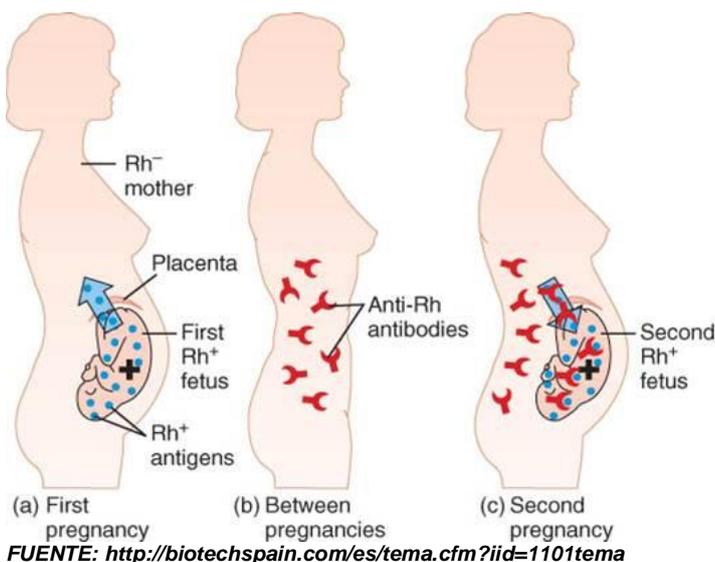
Se puede decir que los anticuerpos complejos (Ig M) son multivalentes, capaces de formar puentes entre dos o más hematíes para dar lugar al fenómeno de aglutinación. Mientras que los anticuerpos incompletos (Ig G) son bivalentes, y por tanto sólo son bloqueantes.

Las reacciones que se producen entre antígeno y sus anticuerpos son el fundamento de las pruebas de laboratorio en Banco de sangre, y determinan, in-vivo, una serie de cuadros clínicos característicos.

### ANTICUERPOS IRREGULARES

Denominamos anticuerpos irregulares a aquellos que se producen frente a antígenos distintos a los del sistema ABO. Son anticuerpos que generalmente aparecen por una inmunización, transfusión o feto materna, y pueden producir reacciones postransfusionales.

**FIGURA Nº 12 ANTICUERPOS DE CRUCE PLACENTARIO**



La identificación de los anticuerpos irregulares es de gran importancia, así en el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad hemolítica de recién nacido y de ciertos trastornos hemáticos, así como en la prevención de reacciones transfusionales y en estudios durante el embarazo.

La detección de los anticuerpos se realiza enfrentando el suero a una serie de hematíes tipados, de los cuales se conocen con exactitud los antígenos presentes en su membrana. El resultado positivo es la aglutinación de los hematíes.

Se puede llevar a cabo mediante tres tipos de técnicas:

- Test de Coombs indirecto.
- Técnica enzimática.
- Técnica a 4 °C.

El test de Coombs indirecto consiste en la incubación previa del suero y los hematíes tipados para conseguir la sensibilización de estos hematíes, es decir, que los anticuerpos presentes en el suero se adhieran a la superficie eritrocitaria.

Posteriormente añadimos en el suero de Coombs (antiglobulina humana) para poner de manifiesto la presencia o no de esos anticuerpos mediante la aglutinación de los hematíes.

Para acortar el tiempo de incubación y mejorar los resultados, podemos emplear un medio de baja fuerza iónica o LISS.

Técnica enzimática consiste en tratar previamente los hematíes tipados con una enzima, para facilitar la aglutinación de los hematíes. Se suelen emplear la tripsina, papaína, ficina o bromelina.

La técnica a 4° C se utiliza para detectar la crio aglutininas o anticuerpos que reaccionan mejor a baja temperatura. Consiste en incubar el suero y los hematíes a 4° C para posteriormente centrifugar y observar la presencia o no de aglutinación. Se recomienda utilizar al menos dos de estas técnicas para obtener buenos resultados en la detección de anticuerpos irregulares<sup>6</sup>

### 2.2.3. Grupos sanguíneos.

#### 2.2.3.1. Sistema ABO generalidades.

Cada uno de nosotros tiene una experiencia personal de la inmunidad, hemos contraído enfermedades infecciosas que han provocado modificaciones tales en nuestro organismo resultado de esto nos hallamos protegidos contra cierto número de ellas.

También podemos adquirir un estado de resistencia gracias a las vacunas que hemos recibido, esta inmunidad se relaciona directamente con la presencia en nuestro organismo de poderosos elementos de lucha, los anticuerpos.

El organismo los produce al reaccionar contra las sustancias extrañas constituidas por las bacterias, virus y toxinas, que desempeñan un papel

---

6. (ABBAS ABUL K. INMUNOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR, CAP. 5 ANTÍGENOS Y ANTICUERPOS, PÁG. 89 – 120)

muy importante en la destrucción de los mencionados agentes. Los laboratorios disponen de medios muy simples para revelar su presencia en una pequeña cantidad de sangre.

La presencia de los anticuerpos específicos de especie, naturales o inmunes, justifica nuestra negativa a recibir sangre de animales, pero los resultados obtenidos mediante el uso de sangre humana habían demostrado que, en una especie determinada, los glóbulos rojos no son necesariamente intercambiables de un individuo a otro. K. Landsteiner encontró la explicación de los accidentes observados.

Landsteiner extrajo sangre a los integrantes del personal de su laboratorio, y separó el suero de los glóbulos rojos, al mezclar cada uno de los sueros con cada una de las muestras de glóbulos rojos comprobó que en algunas de esas mezclas se habían aglutinado los glóbulos mientras que en otras no se observaba aglutinación.

Al examinar el cuadro de las reacciones obtenidas, Landsteiner advirtió que había cierta regularidad entre ellas y que los glóbulos rojos podían ser aglutinados en tres disposiciones diferentes, de personas, podía clasificarse cada muestra de sangre en una de las tres categorías sanguíneas o grupos. (A, B, O.)

Pero Landsteiner creía que estos grupos podían ser más numerosos, y aconsejó a Decastello y a Sturli que examinaran un número mayor de individuos para tratar de encontrar otros. Efectivamente, esos dos investigadores señalaron en 1902 la existencia de otro grupo más escaso que los anteriores (grupo AB).

Así se completó el conjunto que hoy conocemos con el nombre de sistema de grupos ABO

Teniendo en cuenta los hechos anteriores, el tipo sanguíneo AB y O parecen haber alguna forma de combinación de A + A, A + B o B + B (AB

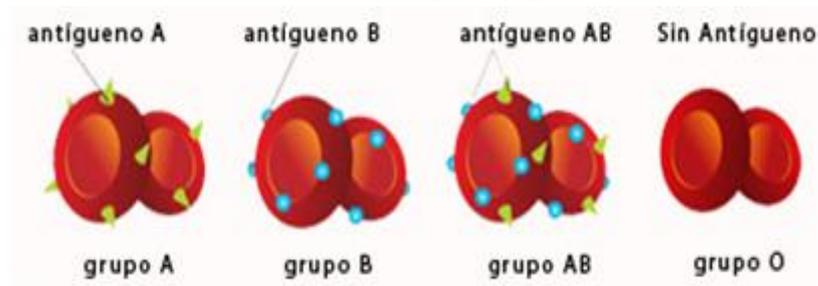
como exclusiva y O inclusive) - mientras que A y B en sí mismos, grupos originales deberán estar separadas.

#### 2.2.3.1.1. Antígenos del sistema abo.

Un grupo sanguíneo es una clasificación de la sangre de acuerdo con las características presentes o no en la superficie de los glóbulos rojos y en el suero de la sangre. Las dos clasificaciones más importantes para describir grupos sanguíneos en humanos son los antígenos (el sistema ABO) y el factor Rh.

Cada individuo posee un conjunto diferente de antígenos eritrocitarios, y por su número, existen a día de hoy cerca de 27 sistemas antigénicos conocidos, más algunos antígenos diferenciados que aún no han sido atribuidos a ningún sistema específico es difícil encontrar dos individuos con la misma composición antigénica.

**FIGURA Nº 13 DISTRIBUCIÓN ANTIGÉNICA DE GRUPOS SANGUÍNEOS ABO**



**FUENTE:** [ananatura.blogspot.com/2012/09/los-grupos-sanguineos-y-la-alimentacion.html](http://ananatura.blogspot.com/2012/09/los-grupos-sanguineos-y-la-alimentacion.html)

De ahí la posibilidad de la presencia, en el suero, de anticuerpos específicos (dirigidos contra los antígenos que cada individuo no posee), lo que resulta en aglutinación o hemólisis cuando ocurre una transfusión incompatible.

Diferentes sistemas antigénicos se caracterizan por inducir a la formación de anticuerpos en intensidades diferentes; por lo que algunos son más comunes y otros, más raros.

Los sistemas antigénicos considerados más importantes son el sistema ABO y el Sistema Rh. Estos son los sistemas comúnmente relacionados a las temidas reacciones de transfusiones hemolíticas.

Reacciones contra antígenos eritrocitarios también pueden causar la dolencia Hemolítica del recién nacido, causada por el factor Rh+ del padre y del bebé y el Rh - de la madre - cuya causa generalmente (no siempre) se asocia a diferencias antigénicas relacionadas al Sistema Rh.

La determinación de los grupos sanguíneos tiene importancia en varias ciencias:

**En hemoterapia**, se vuelve necesario estudiar al menos alguno de estos sistemas en cada individuo para garantizar el éxito de las transfusiones. Así, antes de toda transfusión, es necesario determinar, al menos el tipo ABO y Rh del donador y del receptor.

**En Ginecología/Obstetricia**, se puede diagnosticar DHRN a través de su estudio, adoptándose medidas preventivas y curativas.

**En Antropología**, se puede estudiar diversas razas y sus interrelaciones evolutivas, a través del análisis de la distribución poblacional de los diversos antígenos, determinando su predominancia en cada raza humana y haciéndose comparaciones<sup>7</sup>.

## **ABO.**

Los antígenos A y B son glicoproteínas, producidas por genes alélicos en un locus único, localizados en la parte proximal del brazo corto del cromosoma 9.

Los antígenos correspondientes se encuentran aparentemente adheridos a la membrana de los glóbulos rojos. La especificidad antigénica es

---

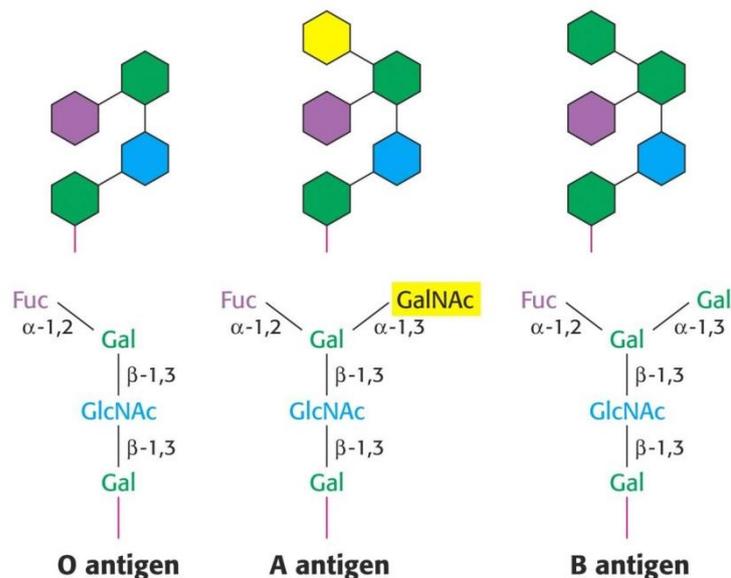
<sup>7</sup> (GOMEZ TORREBLANCA, ANDRÉS JESÚS, GRUPOS SANGUINEOS, CAP. 2 HISTORIA Y EVOLUCIÓN, PÁG. 9 – 25)

conferida por el azúcar, terminal; Ej. Azúcar N-acetilgalactosamina proporciona la especificidad antigénica A y el azúcar galactosa determina la actividad B.

Los antígenos ABO están presentes en todos los tejidos excepto el sistema nervioso central, de donde se deduce la importancia de dicho sistema en transfusión de eritrocitos, leucocitos, plaquetas y trasplantes de tejidos, también se encuentran presentes en las secreciones, como polisacáridos solubles.

El polisacárido presente en las secreciones es químicamente idéntico al presente en los glóbulos rojos.

**FIGURA Nº 14 DISTRIBUCIÓN BIOQUÍMICA DE LOS GRUPOS SANGUÍNEOS ABO**



FUENTE: <http://www.cualessonlos.net/2012/01/cuales-son-los-diferentes-grupos-de.html>

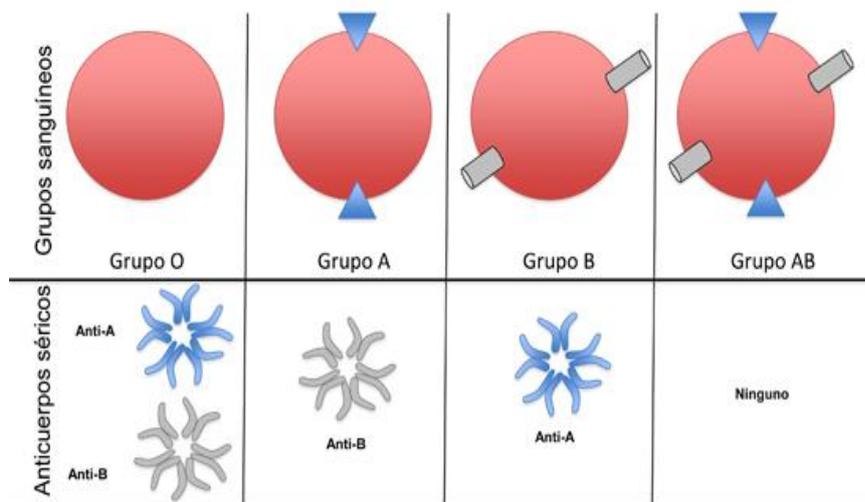
Existen cuatro genes o sistemas genéticos hereditables que aunque diferentes, interaccionan internamente entre sí, que son: se, H, ABO y Lewis. Los productos finales o antígenos son los que son capaces de detectar mediante pruebas serológicas.

Existen una sustancia precursora (SP), una glicoproteína, la cual en presencia del gen H produce la sustancia H (gen H produce una enzima transferasa que añade un azúcar a la SP convirtiéndola el sustancia H).

La sustancia H en presencia del gen A, B o AB es convertida en antígenos A, B o AB genes producen enzimas terminal que añade el azúcar a la sustancia H y produce antígenos correspondientes).

Si no existe el gen A, B, o AB no hay conversión y se forma el antígeno H (O). Para que los antígenos ABH y Lewis estén présenos en las secreciones es necesario la presencia del gen Se<sup>8</sup>

**FIGURA Nº 15 DISTRIBUCIÓN ANTÍGENO – ANTICUERPO DEL SISTEMA ABO.**



FUENTE: <http://www.medicinapreventiva.com.ve/laboratorio/grupos.htm>

### SUBGRUPOS.

El antígeno A, puede presentarse bajo varias formas que difieren entre sí, cualitativa y cuantitativamente y esta diferencia guarda relación con la cantidad del antígeno a presente en la membrana del hematíe, la cual disminuye progresivamente desde A1 hasta A end.

8 (DR. SALOMÓN GRISPAN, LITERATURA GRUPOS SANGUINEOS ABO Y RH, PÁG. 27 – 33)

Las dos formas de subgrupos de A1 y A2 comprenden el 99.9 % de todas las formas de subgrupos de A, se diferencian entre sí por su intensidad de reacción que se presentan al realizar las pruebas de tipificación sanguínea como resultado de esta observación se deduce, que el reactivo ANTI-A, tiene dos componentes, uno de ellos es el Anti-A1 que reacciona solamente con hematíes A1 y ANTI-A que reacciona con hematíes A1 y A2.

En el suero anti-A se obtiene de donantes de grupo sanguíneo B, los subgrupos más débiles son A2, estos son menos frecuentes y reacciona en forma tan débil que es difícil su reconocimiento y pueden erróneamente ser clasificados como grupo "O". Para evitar esta confusión en la rutina diaria de las pruebas realizadas en los servicios de transfusión es de carácter obligatorio utilizar los tres reactivos que permiten la clasificación de los grupos sanguíneos, estos reactivos son Anti-A, Anti-B y Anti-AB.

**FIGURA Nº 16 DEMOSTRACIÓN DE SUBGRUPOS ABO**

Ag	ANATI-A	ANTI-B	ANTI-AB	ANTI-H	Ac Regulares	Ac. Irregulares	Ag. Saliva
A1	4 +	0	4 +	0	anti- b	0	A1-H
A2	3 o 4 +	0	3 o 4 +	3 o 4 +	anti- b	anti-a1 1-3%	A1-H
A3	2 +	0	2 +	4 +	anti- b	anti-a1 posible	A1-H
Ax	0 o 1 +	0	0 o 1 +	4 +	anti- b	anti-a1 frecuente	H
A end	+ o -	0	+ o -	4 +	anti- b	anti-a1 posible	H
Am	o	0	o	4 +	anti- b	0	A1-H
Ay	o	0	o	4 +	anti- b	0	A1-H
Ael	o	0	o	4 +	anti- b	anti-a1 constante	H

FUENTE: Lic. Fernando Jaramillo G, NORMAS Y PRINCIPIOS DE LA INMUNHEMATOLOGÍA APLICADOS A LA MEDICINA TRANSFUSIONAL

Su identificación es importante desde el punto de vista transfusional, pues si son erróneamente clasificados y esta sangre transfundida en receptores de grupo sanguíneo O, pueden ocasionar una reacción hemolítica severa.

Aproximadamente 1 a 2 % de la población son grupo sanguíneo A2 y un 25% como A2B, en estos individuos se producen anticuerpos anti-A1 el cual parece ser un anticuerpo natural, suelen aparecer en personas sin antecedentes transfusionales o embarazos es poco probable que un anticuerpo Anti-A1 de lugar a una reacción hemolítica transfusional esta explicación será porque este anticuerpo no es activo a 37 °C, sólo en muy raros casos se ha reportado un acortamiento de la supervivencia de los glóbulos rojos transfundidos con explicación de haber encontrado anticuerpos anti-A1 activo a 37 °C, pero sí es importante informar que puede interferir con las pruebas de compatibilidad.

Los subgrupos de B son muy raros no suelen ser reconocidos con facilidad para ello se requieren pruebas especiales de elución y absorción

#### 2.2.3.1.2. Anticuerpos del sistema abo:

Los anticuerpos los anticuerpos A y B están presentes en el suero de personas que no poseen su antígeno correspondiente, esta explicación es importante debido a que si se encontrara el antígeno específico hacia el anticuerpo natural daría origen a una reacción hemolítica en vivo y constante. Su presencia obedece a un estímulo antigénico natural es por ello que se le reconoce como anticuerpos naturales, pues las sustancias A y B tienen amplia distribución en la naturaleza las encontramos en plantas, animales y bacterias estos actúan como antígenos a los cuales está expuesto el individuo desde el momento del nacimiento, así el recién nacido no contienen títulos considerables de anti- A ni anti-B a menos que la madre haya producido una forma inmune durante el embarazo, el cual puede atravesar la placenta, la síntesis de estos anticuerpos en el niño comienza entre la edad correspondiente a 3 y seis meses alcanzando así su máximo nivel desde los cinco a los 10 años de vida

estos a su vez decaen progresivamente conforme la edad es progresiva en el individuo.

Estos anticuerpos naturales son de naturaleza IgM, aunque a menudo pueden encontrarse en formas de IgG como resultado de una estimulación antigénica mediante la inyección de sangre incompatible A o B o por embarazos hétero específicos este efecto también puede darse por la administración de vacunas tales como la influenza.

**FIGURA Nº 17 DEMOSTRACIÓN DE ANTICUERPOS ABO**

<b>Grupo</b>	<b>Antígenos Eritocitarios</b>	<b>Anticuerpos Séricos</b>
<b>A</b>	<b>A</b>	<b>anti-b</b>
<b>B</b>	<b>B</b>	<b>anti-a</b>
<b>O</b>	<b>Ninguno</b>	<b>anti-a y anti-b</b>
<b>AB</b>	<b>A y B</b>	<b>Ninguno</b>

**FUENTE:** Lic. Fernando Jaramillo G, *NORMAS Y PRINCIPIOS DE LA INMUNOHEMATOLOGÍA APLICADOS A LA MEDICINA TRANSFUSIONAL*

Las personas del grupo "O" tienen títulos más elevados de anticuerpos anti a y anti b que los otros individuos de grupos sanguíneos A y B.

Cuando se determina el grupo sanguíneo es importante caracterizar las aglutininas anti-A y anti B mediante la realización de la prueba de tipificación sanguínea inversa en la cual se utilizan en Martí es conocidos del grupo sanguíneo A y del grupo sanguíneo B, para la determinación de los anticuerpos mediante esta prueba se describen técnicas que diferencian en costos, sensibilidad y estabilidad de los resultados<sup>9</sup>.

<sup>9</sup> (H. RODRIGUEZ MOYADO, EL BANCO DE SANGRE Y LA MEDICINA TRANSFUSIONAL, CAP. 6 GRUPOS SANGUÍNEOS ABO, PÁG. 43 – 60)

### **RELACIÓN DE LAS INMUNOGLOBULINAS ASOCIADAS AL SISTEMA ABO**

<b>IgM</b>	<b>IgG</b>
Multivalente	Bivalente
Aglutinante	Bloqueante
Temperatura optima de reacción: 4°C	Temperatura optima de reacción: 37°C
No atraviesa la placenta	Sí atraviesa la barrera placentaria

**FUENTE: DISEÑO MÓNICA ALAJO**

#### **2.2.3.2. Sistema Rh.**

Fue el tercer grupo sanguíneo que se descubrió, 40 años después que el sistema ABO.

En el descubrimiento del sistema Rh, concurren dos hallazgos importantes, en el año de 1939 Levine y Stetson encontraron un anticuerpo causante de una reacción hemolítica en un paciente que había recibido una transfusión de sangre proveniente de su esposa, esta paciente terminaba de dar a luz a un feto muerto por eritroblastosis, ellos dedujeron que este anticuerpo era el responsable de ambos problemas, tanto de la causa del eritroblastosis como de la reacción transfusional en la paciente.

Ambos anticuerpos presentaron una especificidad como, la cual era la detección de un factor presente en los glóbulos rojos de un 85% de la población, es decir al poner en contacto el suero de la paciente se encontró este anticuerpo que al cruzarlo con sangre de la mayoría de personas que poseen un antígeno distinto este anticuerpo reaccionaba en la prueba de compatibilidad in vitro lo que indica la presencia de un anticuerpo hacia un antígeno distintos a los ya descubiertos del sistema ABO.

Este factor fue denominado Rh, para indicar su interrelación con el factor eritrocitario de la especie Rhesus y se denominó como Rh positivo a las

personas que poseían este antígeno, y como Rh negativo aquellas personas que no lo poseía de igual manera se determinó que a diferencia del sistema ABO, en la cual se encontraban anticuerpos naturales en el suero los anticuerpos anti-Rh sólo se producían mediante un estímulo lo que permitía que el sistema inmunológico del paciente a quien se producía la estimulación permitiera la producción de anticuerpos en contra de este sistema.

Pronto se hizo evidente que el anticuerpo humano y el encontrado en el conejo no eran idénticos pues el anticuerpo de origen animal reaccionaba fuertemente con los eritrocitos Rh positivos de humanos pero también lo hacía aunque menos fuerte con los Rh negativos debido a que al hablar de la ausencia del antígeno D, no se considera a los otros antígenos que acompañan a este sistema a los que se les denomina antígenos mayores y menores, en conclusión el sistema Rh se compone de una variedad de antígenos a los cuales puede inducir la producción de anticuerpos contra ellos<sup>10</sup>

#### 2.2.3.2.1. Antígenos del sistema rh.

Los antígenos Rh, son compuestos o configuraciones moleculares presentes en muchos sitios de la membrana eritrocitaria, llegándose a calcular que según el genotipo, el número de determinantes para el antígeno D, podría alcanzar hasta 33.300 sitios antihigiénicos, su naturaleza química no está definida como un compuesto ligado a lípidos sino más bien estructurado a los aminoácidos como elementos esenciales proteicos.

En la estructura antigénica de este sistema se ha descrito por lo menos 36 factores relacionados que componen a este sistema de los cuales el más importante clínicamente es el antígeno D.

---

10 .(DR. SALOMÓN GRISPAN, LITERATURA GRUPOS SANGUINEOS ABO Y RH, PÁG. 34-49))

Los otros de menor potencia inmunogenética C son E, ce, existen variantes de los determinantes antihigiénicos llamados mayores del sistema Rh, pero de todos el más importante en su implicación clínica son los de la variante del antígeno D, fue descrita por Stratton en 1946 época en el cual se empleaban sueros anti -D provenientes de un solo donante y no mezclados como se los usa hoy en día, él observó que ciertos glóbulos rojos eran aglutinados débilmente por algunos sueros anti - D pero no por otros, los glóbulos rojos que reaccionaban con un elevado porcentaje de sueros fueron denominados D de alto grado mientras que los que reaccionaba con un número escaso de sueros fueron clasificados como D de bajo grado.

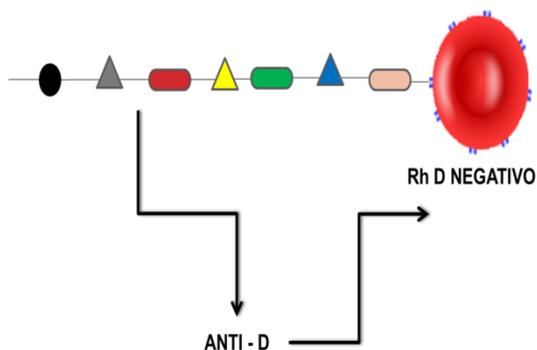
Con usuarios actuales estos son detectados en casi todas las células rojas D positivas aunque su reacción obtenida es la más lenta y la más débil que la observada con las células estándares Rh positivas. Serológicamente se ha descrito como una forma débil del antígeno D habiéndose demostrado que sólo toman un 7 a 25% del anticuerpo anti-D que normalmente fija una célula Rh D positiva.

## **VARIANTES ANTIGÉNICAS D**

### **ANTÍGENO D<sup>U</sup>**

Este es un alelo débil del antígeno D, que se pone manifiesto usando anticuerpos anti-D más potentes que los habituales o mediante técnicas que facilitan la aglutinación de los hematíes previamente sensibilizados (prueba de Coombs).

**FIGURA N° 18 VARIANTE DU**  
**RH DU / VARIANTE DU**

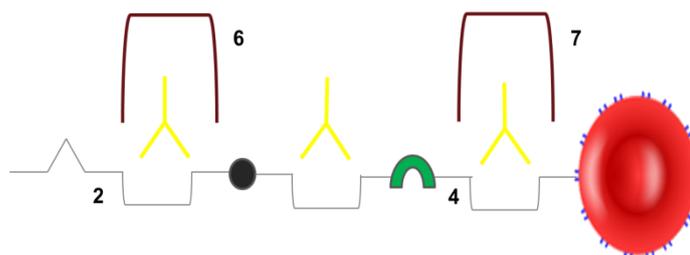


FUENTE: Lic. Fernando Jaramillo G, NORMAS Y PRINCIPIOS DE LA INMUNOHEMATOLOGÍA APLICADOS A LA MEDICINA TRANSFUSIONAL

La importancia de su determinación radica en que un dominante D<sup>u</sup> positivo puede sensibilizar a un receptor D negativo. Si no se detecta en la sangre del donante, la clasificaremos erróneamente como Rh negativo.

**ANTÍGENOS D PARCIALES**

**FIGURA N° 19 VARIANTE D PARCIAL**  
**RH D PARCIAL**



PAD: POSITIVO  
 PAI: POSITIVO/anti-d

FUENTE: Lic. Fernando Jaramillo G, NORMAS Y PRINCIPIOS DE LA INMUNOHEMATOLOGÍA APLICADOS A LA MEDICINA TRANSFUSIONAL

En individuos normales, el antígeno D es un mosaico de subunidades que se encuentran presente en su totalidad o ausente si el paciente es Rh negativo, se le considera un alucinógeno de reacción por interpretarse en

pruebas de una misma muestra como ensayos d positivo y en otras ocasiones como ensayos d negativos.

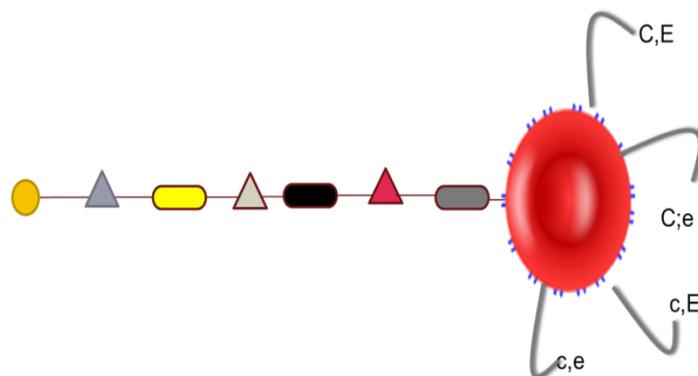
La estructura antigénica de este antígeno hace parecer un faltante, lo que permite interpretarse como negativo.

A este procedimiento se le conoce como mosaico lo que permite generar la producción de anticuerpos contra el antígeno D, pero la persona que posee esta característica antigénica no reacciona debido a que le falta una parte de la estructura de este antígeno si el componente plasmático fuera transfundida un paciente D positivo total generaría la producción de reacciones debido a la interacción antígeno anticuerpo lo que sucedería también si la sangre transfundida de una persona D positiva, a un paciente de variante D ocasionaría de igual manera la reacción.

## D NEGATIVO

**FIGURA Nº 20 VARIANTE D NEGATIVA**

### **RH D NEGATIVO**



**FUENTE: Lic. Fernando Jaramillo G, NORMAS Y PRINCIPIOS DE LA INMUNOHEMATOLOGÍA APLICADOS A LA MEDICINA TRANSFUSIONAL**

Existen individuos que en la membrana del eritrocito no poseen el antígeno D, en ninguna de sus variantes lo que permite clasificarles como Rh negativos pero al evaluar la sangre mediante las pruebas de tipificación se denotan la presencia de una combinación de antígenos denominados mayores y menores lo que radica la importancia de buscar

sangre compatible en la expresión antigénica no sólo del antígeno D, sino también de la variación de los antígenos llamados mayores y menores.

## **SUBGRUPOS DEL ANTÍGENO D**

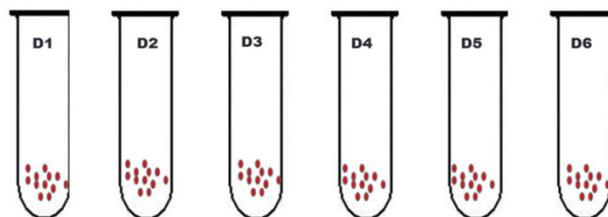
Existen variantes de los determinantes antigénicos mayores del sistema Rh, pero de todos el más importante en su implicación clínica es la variante D, fue descrita por Stratton, en 1946 época en la cual se empleaban sueros anti-D provenientes de un solo donante.

El antígeno D como un complejo o mosaico compuesto de varios subfactores, denominadas RhD1, RhD2, hasta RhD6, en raras ocasiones un individuo puede perder uno de estos subfactores, lo que se quiere lograr con esta clasificación de los factores del sistema RH es determinar la composición antigénica en su totalidad, para el antígeno D.

Esto explica porque muchas de las reacciones que se determinan en los laboratorios cuando se tipifica con anti-D, algunos de los resultados son positivos de manera inmediata, otros tardan en reaccionar pero la final posee el antígeno D. pero en proporciones débiles.

Estas variantes no todas tienen la misma forma de expresarse físicamente o visualmente la dirección en el caso del Rh D negativo, no se observa reacción con este antígeno pero su composición de las variantes antigénicas mayores y menores si expresaran la reacción cuando se le enfrente hacia o con el antisuero corresponde D.

**FIGURA Nº 21 SUBGRUPOS DEL ANTÍGENO D.**



**FUENTE: Lic. Fernando Jaramillo G, NORMAS Y PRINCIPIOS DE LA INMUNOHEMATOLOGÍA APLICADOS A LA MEDICINA TRANSFUSIONAL**

Para demostrar esta concentración antigénica los reactivos son denominados anti-D1, anti-D2...hasta anti D6, los resultados pueden ser los siguientes

Positiva la reacción con D1 hasta D6, la concentración antigénica el total y es conocida como el de RH positivo.

D1 hasta D3 positivo la concentración del antígeno D es débil, es decir pocos sitios antigénicos, su ensayo se relaciona con el RH Du positivo.

D4 hasta D6 positivo, indica la selección o pérdida de un segmento del antígeno D, que puede perder un segmento y generar anticuerpos contra sus propios antígenos al cual se le conoce como D parcial.

D1 hasta D6 negativo, no posee concentración de este antígeno y es conocido común de negativo.

### **ANTÍGENOS MAYORES Y MENORES DEL SISTEMA RH**

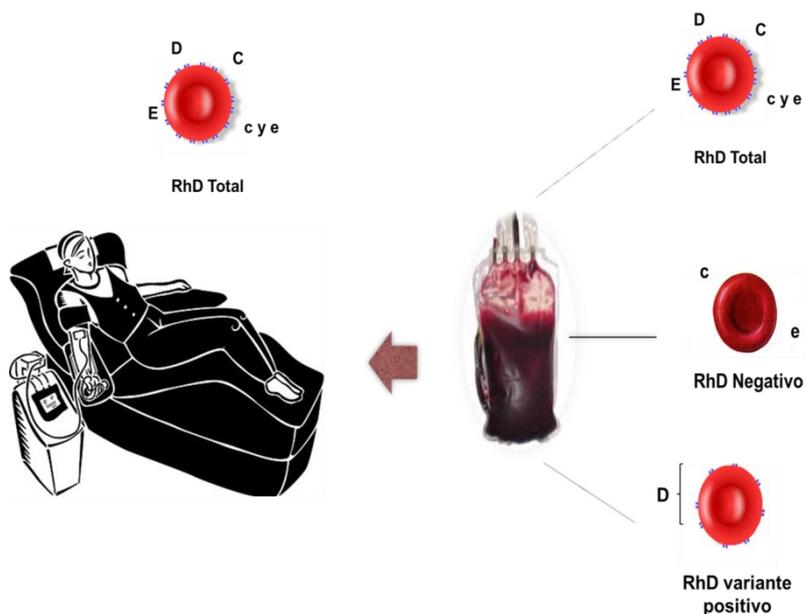
La terminología CEDE fue introducida por Fisher Rase quienes postularon existencia de tres pares de genes ligados C y c, D y D y E, e los genes y sus productos son individualizados con la misma letra aunque esta propuesta no explica por completo algunos perfiles y variaciones antihigiénicas del sistema es de Rh.

Su naturaleza química es compleja y su presencia está codificado por genes, varios autores explican sus combinaciones en base a teorías para poder interpretar la combinación de los antígenos Rh entre éstas está la propuesta por Fisher, Rase y Wiener.

Según Fisher y Rase los cinco determinantes antihigiénicos principales o de mayor importancia clínica que integran el sistema son (Dice), son el producto de tres pares de genes situados en tres locus lentos pero íntimamente ligados, en su concepto cada gen dado origen a un antígeno determinado.

El más importante de estos locus fue denominado D ocupado por el gen responsable del antígeno D un General de lo propuesto fue el del cual es hipotético pues no ha sido demostrado como determinante antihigiénico, de esta manera la letra d se usa sólo para señalar la ausencia D.

**FIGURA Nº 22 ANTÍGENOS MAYORES Y MENORES RH EN TRANSFUSIONES**



**FUENTE:** Lic. Fernando Jaramillo G, *NORMAS Y PRINCIPIOS DE LA INMUNHEMATOLOGÍA APLICADOS A LA MEDICINA TRANSFUSIONAL*

Un segundo locus fue llamado C, conteniendo uno o dos alelos C o c el tercer locus contiene los genes E o e cada uno de ellos es responsable de la producción de su correspondiente antígeno eritrocitario.

Considerando que estos locus son tan estrechamente ligados la herencia de ellos se produciría en un solo bloque contribuyendo ambos padres, sendos genes.

En el concepto e Wiener la herencia del sistema RH es controlada por un gen único localizado en un locus simple en cada cromosoma, existen múltiples alelos de este gen, y son los ocho al de los mayores denominados con los símbolos Ro, R1, R2, R', r, r', r'' cada gen da lugar a un antígeno eritrocitario conocido como aglutinógeno, el cual puede ser identificado en sus diferentes partes o factores mediante sueros

específicos por ejemplo el gen R1 da origen al alucinógeno Rh1 en el glóbulo rojo y a su vez este aglutinó que él se compone de tres factores rho, rh' y hr''.

Cada teoría emplea una nomenclatura diferente, las cuales son de uso frecuente en la literatura y por lo tanto debe estarse familiarizado con ambas equivalencias.

**NOMENCLATURA DEL SISTEMA Rh**

Wiener	Fisher –Race	Rosenfield
Rho	D	Rh1
rh`	C	Rh2
rh''	E	Rh3
h`r	c	Rh4
hr''	e	Rh5

FUENTE: DISEÑO MÓNICA ALAJO

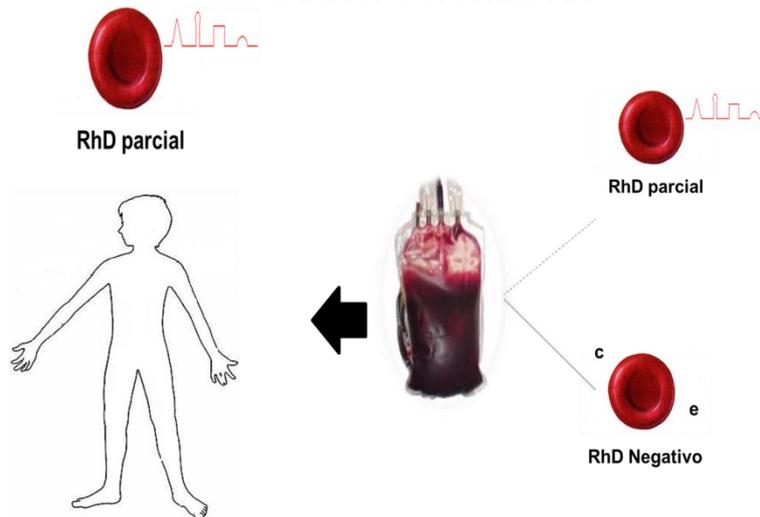
2.2.3.2.2. Anticuerpos del sistema Rh:

La mayoría de las pruebas serológicas en Inmunohematología dependen de reacciones entre antígenos en los glóbulos rojos y anticuerpos en el suero. Los anticuerpos sanguíneos son usualmente Ig G y/o IgM y en casos raros IgA.

La capacidad de fijar complemento por algunos de estos anticuerpos son también importantes para el entendimiento de algunos fenómenos en vitro y en vivo. Usualmente los anticuerpos IgG tienen mayor significado clínico y en Enfermedad Hemolítica del recién nacido son los anticuerpos IgG los responsables de la enfermedad. Por otro lado reacciones hemolíticas transfusionales causadas por anticuerpos IgM con fijación de

complemento pueden causar hemólisis intravascular severa (ej. Incompatibilidad de grupo ABO) y reacciones transfusionales hemolíticas causadas por anticuerpos IgG pueden causar hemólisis extravascular y reacción menos severa (Ej. incompatibilidad Rh).

**FIGURA Nº 23 FORMACIÓN DE ANTICUERPOS IRREGULARES POR TRANSFUSIONES RH**



**FUENTE: Lic. Fernando Jaramillo G, NORMAS Y PRINCIPIOS DE LA INMUNHEMATOLOGÍA APLICADOS A LA MEDICINA TRANSFUSIONAL**

El término "anticuerpos completos" o de ocurrencia natural" se utiliza para indicar anticuerpos IgM capaces de producir aglutinación visible de glóbulos rojos suspendidos en solución salina, ej. anti A, anti B, Se les ha llamado también de "ocurrencia natural" nombre que probablemente es incorrecto ya que aparentemente son producidos por estimulación antigénica. Anticuerpos "incompletos" usualmente IgG son capaces de adherirse al antígeno pero son incapaces de aglutinar glóbulos rojos suspendidos en salina y para demostrarla presencia de las mismas es necesario utilizar solución eso medios potenciadores, como ser: albúmina, enzimas, suero antiglobulina, etc. Estos anticuerpos solo aparecen con estimulación antigénica.

Los glóbulos rojos están rodeados de cargas electro negativas, las que sirven para mantener los eritrocitos constantemente separados unos de otros evitando así, agregación espontánea y permitiendo que los glóbulos

rojos tengan mayor área de superficie y así adecuado transporte de oxígeno.

También los eritrocitos están rodeados de cationes, formando así una capa doble o nube iónica que rodea al eritrocito y viaja con este como que formar aparte del mismo. Esta carga eléctrica que mantiene los eritrocitos aparte el uno del otro es medida en el margen de la nube iónica y este punto se llama "plañe of shear". La carga eléctrica media en este punto se denomina potencial Zeta.

Esta carga eléctrica mantiene los eritrocitos separados unos de los otros a una distancia mayor de 25 Nanómetros. La longitud de la molécula de IgM es aproximadamente de 100 Nanómetros y por lo tanto puede aglutinar glóbulos rojos suspendidos en solución salina.

La molécula de IgG es menor de 25 Nanómetros y por lo tanto aunque se adhiere al antígeno (sensibilización) no produce aglutinación visible. Para poder demostrar dichos anticuerpos IgG es necesario disminuir el potencial zeta y esto se logra con el uso de: suero antiglobulina o suero de Coombs, albúmina, enzimas, etc.

#### 2.2.3.3. Sistema Lewis.

Es conocido corrientemente como otro de los sistemas eritrocitarios inmunológicamente débiles. Tiene una doble importancia por:

El **locus Lewis** interrelaciona su genética bioquímicamente con el locus ABO, por tanto, es imprescindible tener en cuenta este sistema cuando se estudia el ABO y los sistemas asociados.

Este **sistema Lewis** es inicialmente plasmático, y una vez que se forman bioquímicamente son adsorbidos por la membrana del eritrocito. Los antígenos Lewis, por tanto, se generan en el plasma, que es un líquido corporal.

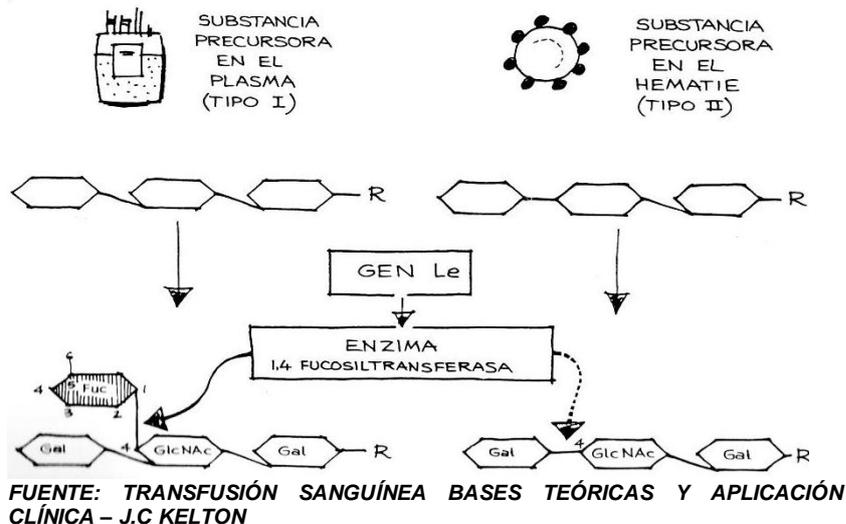
### 2.2.3.3.1. Antígenos del sistema Lewis.

Los antígenos del sistema Lewis, proceden del plasma y se absorben a los hematíes, los genes alélicos del sistema Lewis se presentan por los símbolos Le y le; le presenta el gen dominante, el gen le es un alelo silencioso.

El gen Le codifica una enzima que es responsable de la adición de fucosa (FUC) mediante una unión 1-4 a la N-acetilglucosamina (GlcNAc) su terminal de una cadena tipo I de sustancia precursora.

La fucosa no puede añadirse a las cadenas de tipo II, que se hallan en los hematíes es debido a que el cuarto carbono de la N-acetilglucosamina ya está ocupado por la galactosa terminal.

**FIGURA Nº 24 ESTRUCTURA BIOQUÍMICA DEL SISTEMA LEWIS.**



Esto explica por qué los antígenos del sistema Lewis no constituyen una parte intrínseca de la membrana de los hematíes sino que son sustancias absorbidas procedentes del plasma, se han descrito tres fenotipos Lewis comunes Le (a+b-), Le (a-b+) y Le(a-b-).

Estos tres genes son el resultado de la interacción de los genes Le, H y le. La estructura bioquímica de los antígenos Lea y Leb difieren solamente

en una molécula de Fucosa, a la galactosa terminal de la sustancia precursora del plasma la sustancia resultante es el antígeno H.

#### 2.2.3.3.2. Anticuerpos del sistema Lewis.

**FIGURA Nº 25 ANTICUERPOS DEL SISTEMA LEWIS.**

FENOTIPO DE LOS HEMATIES	ANTICUERPO QUE PUEDE PRODUCIRSE
Le (a+b-)	ANTI - Le <sup>b</sup>
Le (a-b+)	—
Le (a-b-)	ANTI-Le <sup>a</sup> , ANTI-Le <sup>b</sup>

FUENTE: TRANSFUSIÓN SANGUÍNEA BASES TEÓRICAS Y APLICACIÓN CLÍNICA - J.C KELTON

Los anticuerpos del sistema Lewis son aloanticuerpos naturales de clase IgM producidos por algunos individuos Le a- y Leb- ocasionalmente el anticuerpo Leb es producido por individuos cuyo fenotipo es Le (a+b-) los individuos (a-b+) no producen anticuerpos anti-Lea dado que poseen su plasma pequeñas

#### 2.2.3.4. Sistema de grupo sanguíneo Kell.

Los antígenos pueden, de manera accidental provocar situaciones de incompatibilidad feto materna; cuando esto ocurre los niveles de incompatibilidad son mayores que los que provoca el **antígeno D** del Rh.

Es un locus dialítico, ocupado por los alelos K denominado por antonomasia Kell, y el k que se denomina Cellano.

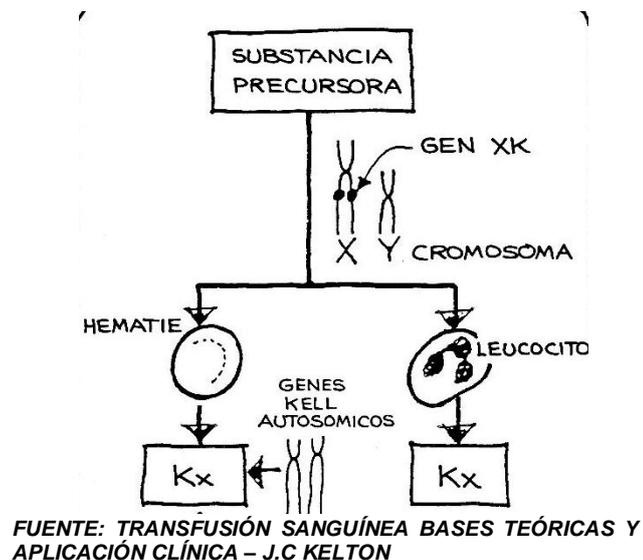
Son alelos codominantes ya que las personas pueden inmunizarse frente a esos antígenos del sistema Kell y por tanto, se forman aloanticuerpos.

#### 2.2.3.4.1. Antígenos del sistema Kell.

Los antígenos del sistema Kell se producen a partir de una sustancia precursora  $kk$  codificada por el gen XK situado en el cromosoma X, hay por lo -20 antígenos que se incluyen en este sistema muchos de ellos de elevada frecuencia los que se denominan de importancia clínica es el antígeno K (Kell) y k (cellano) son producidos por genes alélicos, dando origen a tres fenotipos:  $K+k^-$ ;  $K+k^+$ ;  $K-k^+$ , los cuales corresponden a los genotipos  $KK$ ,  $Kk$  y  $kk$  respectivamente.

El antígeno K es inmunógeno por tanto muchos individuos K- producen anti-K cuando reciben hematíes  $K^+$  por ser baja la frecuencia del antígeno  $K^+$  (9%) no es difícil encontrar sangre compatible para los pacientes con anti-K.

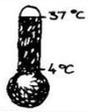
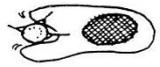
**FIGURA Nº 26 ANTÍGENOS DEL SISTEMA KELL**



El antígeno k tiene una frecuencia del 99.9 % por esta razón es raro encontrar anticuerpos anti-k además no es sorprendente la dificultad para encontrar sangre k- para los pacientes sensibilizados al factor Cellano (k).

2.2.3.4.2. Anticuerpos del sistema Kell.

**FIGURA Nº 27 ANTICUERPOS DEL SISTEMA KELL**

ANTICUERPOS DEL SISTEMA KELL	
CLINICAMENTE SIGNIFICATIVOS  SI	CLASE DE ANTICUERPOS  RARAMENTE 
RANGO TERMICO  	EHRN  
REACCIONES TRANSFUSIONALES	
H. EXTRAVASCULAR  	H. INTRAVASCULAR  RARA

FUENTE: TRANSFUSIÓN SANGUÍNEA BASES TEÓRICAS Y APLICACIÓN CLÍNICA – J.C KELTON

Los anticuerpos del sistema Kell son generalmente IgG su producción es estimulada mediante la transfusión de sangre incompatible o por embarazos incompatibles, por lo tanto pueden ser la causa de las reacciones de tipo transfusional y de la enfermedad hemolítica en el recién nacido, su determinación y evaluación de estos anticuerpos se los practica mediante la realización de las pruebas de Coombs, está a través de la prueba de multipanel de células que permiten evidenciar la presencia de anticuerpos y a su vez correlacionar este hacia el antígeno específico en fases denominadas salina, liss y Coombs<sup>11</sup>

2.2.4. Determinación de anticuerpos.

En la rutina de laboratorio de los servicios de sangre es común observar reacciones variables entre los antígenos y los anticuerpos, en general esta reacción es frecuentemente resultan de diferencias en el anticuerpo mismo, debido a que éstos pueden ser de clase o de diferencia IgM o IgG, y por su principio pueden reaccionar a temperaturas de 37 °C o menos.

11 .(KELTON J.C. TRANSFUSIÓN SANGUÍNEA BASES TEÓRICAS Y APLICACIÓN CLÍNICA, CAP. 5 Y 6 PÁG. 39-63)

De esta manera no todos los sueros o reactivos utilizados pueden evidenciar la presencia de los anticuerpos aun cuando se repitan las pruebas con el suero del mismo paciente a es así que los resultados varían en tomas de muestras en días subsiguientes y en relación a otras muestras.

El suero plasma que se conserva para su análisis y sus repeticiones pierden generalmente actividad y por este motivo las reacciones nos pueden dar falsas cuando al principio fueron positivas recordando también que es importante considerar las características de los reactivos que se emplean para la evaluación de los anticuerpos es importante para ello tomar en cuenta los siguientes parámetros.

**AVIDEZ.-** Es la rapidez con que un anticuerpo se combina y se estabiliza como un antígeno correspondiente se dice que es grande cuando el anticuerpo reacciona rápidamente con cantidades adecuadas de eritrocitos para producir grandes masas de aglutinados.

**TITULO.-** Si un suero plasma que contiene un anticuerpo es diluido progresivamente llegar a un punto en el cual ya no podrá ser detectado esta prueba de cuantificación de los anticuerpos es conocida como titulación y su valor es la recíproca de la dilución en la cual se observa la aglutinación mínima, el método más usado es el de doble dilución 1:2, 1:4 1: 8 ...etc. los anticuerpos con títulos más elevados se detectan mejor que aquellos con títulos bajos sin embargo si tienen escasa avides pueden presentarse problemas para su interpretación.

**CONSERVACIÓN.-** Los anticuerpos son moléculas lábiles y con facilidad pierden actividad por esta razón se recomienda usar sueros frescos y mantenerlos bajo refrigeración cuando no están en uso es importante en la manipulación de la temperatura de conservación de los mismos si se requiere de un depósito prolongado o de uso repetitivo se recomienda que

estas muestras sean congeladas y divididas en alícuotas para su respectivo análisis en relación a los sueros comerciales se debe observar la fecha de vencimiento antes de usarse y seguir estrictamente las indicaciones del fabricante para su preservación e interpretación.

#### 2.2.4.1. Medios de reacción antígeno – anticuerpo:

**SOLUCIÓN SALINA.-** Una solución salina normal es 0.9% de cloruro de sodio en agua y se le llama solución fisiológica. El cloruro de sodio es esencial para la vida en la Tierra. El nivel de fluidos del cuerpo es un componente importante para mantener el cuerpo en buenas condiciones. Las concentraciones de ion sodio juegan un papel muy importante en el mantenimiento del volumen del fluido corporal en niveles adecuados.

**FIGURA Nº 28 SOLUCIÓN SALINA 0.9%**



**FUENTE:** [http://www.ehowenespanol.com/del-cloruro-potasio-solucion-salina-sobre\\_393720/](http://www.ehowenespanol.com/del-cloruro-potasio-solucion-salina-sobre_393720/)

La solución salina es la terapia más crucial para remplazo de fluidos usada para prevenir o tratar deshidratación y el agotamiento anormal de fluidos corporales. También se administra vía intravenosa para prevenir el choque hipovolémico, una condición médica de emergencia en la cual la rápida pérdida de fluido hace al corazón incapaz de suministrar suficiente sangre. También es usado para tratar los pasajes nasales secos o irritados causados por alérgenos, resfriados, poca humedad o descongestionantes nasales.

La solución salina se mezcla con dextrosa o glucosa para reponer la rápida pérdida de fluidos corporales (deshidratación). La solución salina a veces se usa como gotas nasales. La forma de aplicación adecuada es acostarse e inclinar la cabeza, usando un gotero. Las precauciones son necesarias cuando se usa solución salina porque puede interactuar con ciertas condiciones médicas. Si una paciente está embarazada, planea embarazarse o está lactando, tomando suplementos dietéticos, o es alérgica a medicinas u otras sustancias, es mejor abstenerse de usar solución salina<sup>12</sup>

La solución salina empleada en los laboratorios de transfusión 0.9% estrictamente debe tener una concentración los anticuerpos que producen aglutinación en salina siempre suelen ser de tipo IgM estos anticuerpos o aglutininas son denominadas frías como una reactividad óptima de 4 a 24 °C, algunos anticuerpos salinos como son el caso de anti-a, anti-b, anti-Lewis, Anti-P reaccionan bien a una temperatura ambiente 18 a 24 °C.

Como anticuerpos de gran avidéz se puede observar una aglutinación fuerte cuando la reacción se practica en la mina portaobjetos pero ésta puede ser mucho más clara si el ensayo se lo hace en tubo ayudado de la fuerza de centrifugación bajo condiciones apropiadas.

Al evaluar anticuerpos IgG con solución salina no suelen aglutinar fácilmente éstos sólo son recubiertos y su medio óptimo para evidenciar la reacción suele darse a 37 °C y en unos casos, ayudas de componentes que permiten reducir cargas eléctricas y mejorar la atracción del antígeno con el anticuerpo.

**SOLUCIÓN DE BAJA FUERZA IÓNICA (LISS).**- Se ha observado que la reacción antígeno anticuerpo mejoran al incorporar potenciadores que permiten reducir la fuerza y única del medio donde se da la reacción, esta fuerza iónica es uno de los factores más importantes que determina el

---

12 ([http://www.ehowenespanol.com/del-cloruro-potasio-solucion-salina-sobre\\_393720/](http://www.ehowenespanol.com/del-cloruro-potasio-solucion-salina-sobre_393720/))

nivel y cantidad de captación de anticuerpos por parte de los eritrocitos, el uso de estos medios de reacción de baja fuerza y única ha permitido disminuir el tiempo de incubación y potenciar la reacciones de los anticuerpos sin incrementar la reacciones inespecíficas lo que ha reducido la entrega de resultados, la realización de los exámenes y sobre todo la evidencia de anticuerpos que comprometen la reacciones transfusionales en las pruebas de los servicios de sangre

### **FIGURA N° 29 SOLUCIÓN DE BAJA FUERZA IÓNICA**



**FUENTE:** <http://www.grupolabca.com.mx/laboratorios%20clnicos/Licon/banco%20de%20sangre/Tarjeta%20Gel/Tecnica%20tarjeta%20gel%20reactivos.htm>

El reactivo de liss permite reducir la fuerza iónica del medio de reacción en los procedimientos de detección e identificación de anticuerpos y en las pruebas de compatibilidad al adicionar este reactivo se refuerza la interacción antígeno anticuerpo durante la incubación a diferencia de otras soluciones de baja fuerza iónica para res suspensión celular este reactivo presenta la ventaja de evitar el deterioro de los antígenos durante 28 días los glóbulos rojos re suspendidos en esta solución puede ser utilizados en las técnicas de la mina, tubo, micro placa o gel.

Las muestras que van a ser evaluadas deben ser obtenidas con técnicas asépticas generalmente se recomienda muestras con anticoagulantes y obtenidas por un sistema al vacío cuando se realiza pruebas de detección e identificación de anticuerpos y pruebas de compatibilidad se debe utilizar suero fresco en caso de que la prueba se realice en tiempos posteriores a la obtenida, se conservará de 2 a 8 °C por más de 48 horas los sueros que son conservados a más de 48 horas provenientes de

muestras con anticoagulantes pueden ser usados sin embargo esto podría provocar fallas al detectar los anticuerpos dependientes del complemento, los eritrocitos a emplearse en esta prueba pueden ser glóbulos rojos reactivos comerciales o glóbulos rojos caseros preparadas con sangre identificada para su análisis.

**ALBUMINA BOVINA.-** La albúmina constituye el 60% del total de proteína presentes en el plasma, entre ese medio es la proteína de mayor talla (585 aminoácidos), sus funciones en el organismo son el establecimiento de la presión coloidosmótica para regular los volúmenes intra y extracelular, transporta sustancias como hormonas, fármacos, enzimas y toxinas, participa en el secuestro de radicales libres, regula el equilibrio ácido-base y se une a lípidos para formar lipoproteínas.

**FIGURA Nº 30 ALBUMINA BOVINA**



**FUENTE:** <http://www.grupolabca.com.mx/laboratorios%20clnicos/Licon/banco%20de%20sangre/Tarjeta%20Gel/Tecnica%20tarjeta%20gel%20reactivos.htm>

En Inmunoematología la reacción antígeno-anticuerpo puede medirse *in Vitro* por diferentes técnicas como las pruebas de ELISA, de hemólisis, de Inhibición de la aglutinación y de aglutinación, estas últimas son las más utilizadas. En las técnicas de aglutinación, si el anticuerpo que participa en la reacción antígeno-anticuerpo es de la clase IgG (molécula monomérica), necesita el concurso de otros agentes que faciliten su acercamiento al antígeno en los eritrocitos, estos agentes potenciadores

de la aglutinación son las enzimas proteolíticas, los reactivos antiglobulínicos humano y la albúmina sérica bovina.

La obtención de albúmina a partir del plasma bovino se realiza, por tres vías, electroforesis, purificación por columna y termo coagulación. En la corrida electroforética se toma la banda de la albúmina, que posteriormente se electroeluye y en la purificación por columna de gel se purifica por peso molecular.

Estos dos métodos son caros por ello se prefiere la termo coagulación a temperatura controlada de 70°C, a esta temperatura la albúmina termo coagula con un alto grado de pureza. Para su uso en Inmunohematología la albúmina debe polimerizarse con glutaraldehído, para formar un polímero de alto peso molecular.

La Albúmina sérica bovina como producto terminado, debe cumplir los requisitos generales descritos anteriormente. Los requisitos particulares que debe cumplir este tipo de reactivo son: concentración de 200 y 300 g/L para su uso en Inmunohematología, habilidad potenciadora de la reacción de aglutinación, los títulos de anticuerpos anti-D y anti-c obtenidos con la albúmina evaluada deben ser iguales o superiores a los obtenidos con una albúmina de referencia, las reacciones de aglutinación observadas con la albúmina evaluada deben ser iguales o mayores a las obtenidas con la albúmina de referencia y no debe provocar fenómeno de prozona.

En la prueba de falsos positivos la albúmina no debe provocar hemólisis ni fenómenos Rouleaux al ser añadida a eritrocitos de los grupos A1, B y O; no debe presentar proteínas IgG, su ausencia se investiga por técnicas electroforéticas o por ensayos serológicos de inhibición de la reacción de anticuerpos anti-D, con el reactivo antiglobulínico humano poliespecífico; no debe presentar sustancias de grupos sanguíneos como A, B, Lea y Leb, esto se determina al realizar ensayos de inhibición de la aglutinación con eritrocitos y anticuerpos anti- A, -B, -Lea y -Leb; por último no debe

presentar sustancias con actividad tipo neuraminidasa capaces de exponer el cripto antígeno T en los eritrocitos.

## REACTIVOS ANTIGLOBULÍNICOS HUMANO

En 1945, Coombs, Mourant y Race describieron una prueba para detectar anticuerpos Rh no aglutinantes en suero, posteriormente se utilizó la misma prueba para demostrar recubrimiento de anticuerpos y componentes del complemento sobre el hematíe *in vivo*. Esta prueba se conoce en la actualidad como prueba de antiglobulina o sencillamente prueba de Coombs en honor al investigador, la misma impulsó el desarrollo de la Inmunohematología y ciencias afines, y permitió el descubrimiento de varios sistemas de grupos sanguíneos.

### FIGURA N° 31 SUERO DE COOMBS



FUENTE: <http://www.grupolabca.com.mx/laboratorios%20clnicos/Licon/banco%20de%20sangre/Tarjeta%20Gel/Tecnica%20tarjeta%20gel%20reactivos.htm>

El reactivo antiglobulínico humano o suero de Coombs, se obtiene al inmunizar animales con globulinas del suero humano, estas pueden ser inmunoglobulinas purificadas (IgG, IgM, IgA) y/o fracciones de complemento (C3b, C3d,...), produciéndose anti proteínas humanas en el suero animal, las que se purifican tras adsorción con eritrocitos humanos lavados que eliminan las aglutininas no deseadas.

Con este reactivo se demuestran anticuerpos eritrocitarios y/o complemento recubriendo hematíes *in vivo*, a esta prueba se le conoce

como prueba de Antiglobulina directa (PAD) o Coombs directo. Con la utilización de un panel Eritrocitario se realiza la prueba de antiglobulina indirecta (PAI) o Coombs indirecto, al demostrar la presencia de anticuerpos libres en suero mediante la reacción antígeno-anticuerpo *in vitro*.

Los sueros antiglobulínicos se obtienen de forma policlonal y mediante la tecnología de hibridomas, ambos pueden ser poliespecífico o monoespecíficos, los primeros contienen anticuerpos anti-inmunoglobulinas y anti-complemento, los segundos pueden ser monoespecíficos Anti-IgG, Anti- IgA, o Anti-IgM si no tienen actividad anti-complemento, o monoespecíficos

Anti-C3d si no tienen actividad anti-inmunoglobulina.

El reactivo de Coombs en su evaluación como diagnosticador, debe cumplir los requisitos generales descritos para los hemoclasificadores policlonales y con los requisitos de potencia, especificidad y reproducibilidad. Para el control de calidad los sueros antiglobulínicos se dividen en tres grupos, el grupo I está compuesto por los sueros antiglobulínicos poliespecífico (anti-IgG, -C3 y en ocasiones -IgA), el grupo II lo integra el suero anti-IgG y el grupo III el suero anti complemento (anti-C3).

Para la prueba de potencia de los reactivos de los grupos I y II deben utilizarse sueros anti-D y anti-F ya (clase IgG) de título 16 a 64 en la PAI. Los sueros de estos dos grupos y sus diluciones 1:2 y 1:4 deben aglutinar eritrocitos de grupo RhD positivos, Fy(a+b+) sensibilizados con la dilución 1:16, 1:32 o 1:64 (dependerá del título de los anticuerpos usados) de anti-D y anti-Fya. Los reactivos de los grupos I y III deben aglutinar eritrocitos recubiertos con C3b con título no menor que 4 y deben aglutinar eritrocitos recubiertos de C3d con un título no menor que 1 y reacción de 2+ de aglutinación.

Los reactivos del grupo I con actividad anti-IgA deben aglutinar eritrocitos recubiertos de IgA con título no menor que 4.

En la prueba de especificidad los reactivos del grupo I no deben aglutinar eritrocitos recubiertos con C4d, los del grupo II no deben aglutinar eritrocitos recubiertos con C3b, C3d, C4d, y los del grupo III no deben aglutinar eritrocitos recubiertos de IgG y C4d. Los sueros antiglobulínicos no deben aglutinar ni hemolizar eritrocitos de los grupos A1, B y O tratados con papaína, tampoco cuando se incuben muestras de estos grupos durante 30 minutos a temperaturas de 4°C, de 20 a 30°C y 37°C.

Los reactivos antiglobulínicos no deben aglutinar ni hemolizar, suspensiones de eritrocitos en salina y en solución de baja fuerza iónica (LISS), provenientes de 2 donantes de cada uno de los grupos A1, B y O, las muestras deben colectarse del segmento de las unidades de sangre, que estén almacenadas entre 2 y 8°C durante 10 a 15 días. Así mismo no deben reaccionar en la PAI con los eritrocitos referidos anteriormente y el suero de 6 donantes. Los sueros de los donantes deben obtenerse antes de las 24 horas de realizarse el estudio, deben estar libres de anticuerpos irregulares y ser ABO compatibles con las muestras de los eritrocitos colectados.

La reproducibilidad se determina al realizar la PAI y la PAD en al menos 300 muestras de sangre de donantes, 5 muestras de pacientes AHAI y 5 muestras de pacientes con anticuerpos irregulares. Estos ensayos se deben realizar en paralelo con un producto de referencia.

Los reactivos antiglobulínicos junto a los hemoclasificadores monoclonales y policlonales, se aplican en la detección e identificación de anticuerpos, pruebas de compatibilidad, determinación de grupos sanguíneos, diagnóstico de AHAI, estudios de hemólisis inducida por fármacos, estudios de enfermedad hemolítica del feto y del recién nacido, investigación de reacciones transfusionales hemolíticas y conformación de paneles celulares.

## **ENZIMAS.**

Las enzimas proteolíticas que se utilizan normalmente en las pruebas Inmuno hematológicas son: **FICINA, PAPAÍNA, BROMELINA y TRIPSINA.**

La mayoría de los laboratorios la comercializan ya lista para su uso, pero también se pueden preparar (en polvo).

Lo fundamental de controlar en una enzima es el pH, que es un factor crítico y varía de una a otra y dichas alteraciones pueden hacer que una solución enzimática sea sensible o hipersensible.

Las soluciones enzimáticas concentradas listas para diluirse a los hematíes ya tratados pueden congelarse.<sup>13</sup>

2.2.4.2. Factores que favorecen la reacción antígeno anticuerpo.

## **TEMPERATURA.**

Se ha discutido el efecto de la temperatura sobre la configuración del antígeno y su influencia consiguiente sobre la sensibilización y la aglutinación con la mayor parte de pruebas que se basan en las reacciones entre antígenos y anticuerpos eritrocitarios, se efectúan a 37 °C.

## **DENSIDAD DEL ANTÍGENO.**

Cuanto mayor es el número de antígenos en la superficie del hematíes tanto mayor es el grado de sensibilización, la fijación de moléculas de anticuerpos cargadas positivamente disminuían el potencial Z. y aumenta la aglutinación, por otra parte la mayor densidad del antígeno también

---

13 (SANGRE Y COMPONENTES SEGUROS, GUÍA Y PRINCIPIOS PARA UNA PRACTICA TRANSFUCIONAL SEGURA – OMS, 2008, pg. 74- 109)

aumenta las probabilidades de que el anticuerpo puede establecer puentes entre los hematíes.

### **GRUPACIÓN Y MOVILIDAD DE LOS HEMATÍES.**

La situación próxima de los antígenos en una membrana eritrocitos facilita la aglutinación, ya que supone mayor número de probabilidades para la fijación del anticuerpo en el lugar antihigiénico determinado, algunos antígenos como los RH solamente están agrupados después del tratamiento enzimático, otros antígenos pueden ser arrastrados a través de la membrana por la acción del anticuerpo, pasando así a formar agrupaciones.

### **CARACTERÍSTICAS DEL ANTICUERPO.**

La capacidad de un anticuerpo para aglutinar los hematíes depende de la clase de inmunoglobulina a que pertenece, la molécula de IgM tiene mayor tamaño que la de IgG siendo por tanto más efectiva para producir aglutinación, de todos modos la molécula de IgG puede ser modificada químicamente para aumentar su envergadura y mejorar la capacidad de aglutinación.

**EFFECTO DE DOSIS:** El efecto de dosis es una vía por la que algunos antígenos pueden afectar la fuerza de la reacción antígeno-anticuerpo. Algunos anticuerpos muestran diferencias en la fuerza de sus reacciones, en dependencia de la cantidad de antígeno presente en las células. A veces estas cantidades son proporcionales al

Genotipo del individuo, por ejemplo, los eritrocitos M<sup>+</sup> de un individuo de genotipo *MM* contienen más antígeno M que los eritrocitos M<sup>+</sup> de un individuo de genotipo *MN*.

#### 2.2.4.3. Reacción de aglutinación.

La reacción antígeno – anticuerpo puede darse in vivo como in vitro. La reacción in vivo generalmente coincide con la invasión al organismo por antígenos extraños que reaccionan por intermedio de los anticuerpos como sucede en la reacción hemolítica transfusional, o mediante la transferencia pasiva de anticuerpos como en el caso de enfermedad hemolítica del recién nacido o también llamada incompatibilidad de grupo o factor.

La reacción in vitro es de particular importancia porque ella permite que tanto los antígenos como los anticuerpos pueden ser destacados y estudiados en el laboratorio mediante pruebas específicas.

La mayoría de técnicas empleadas en el banco de sangre para detectar las reacciones entre antígenos y anticuerpos, se basan en la aglutinación y en ocasiones, la lisis de los glóbulos rojos (hemolisis).

Aglutinación, consiste en el agrupamiento de la suspensión de partículas que se debe a la reacción entre un antígeno presente en las partículas (aglutinógeno) y un anticuerpo específico (aglutinina).

Las partículas pueden ser vitales (hematíes y bacterias) o inertes (carbón vegetal, látex = polímero de polietileno, bentonita = arcilla y gelatina).

Si la partícula utilizada en la aglutinación es un hematíe se lo denomina reacción de hemaglutinación.

#### **Aglutinación**

Son técnicas más sensibles que se usan para valorar la presencia de anticuerpos específicos en el suero. Se basan en la capacidad de los antígenos particulados, unidos a sus anticuerpos complementarios, para aglutinarse dando lugar a un agregado que se ve a simple vista.

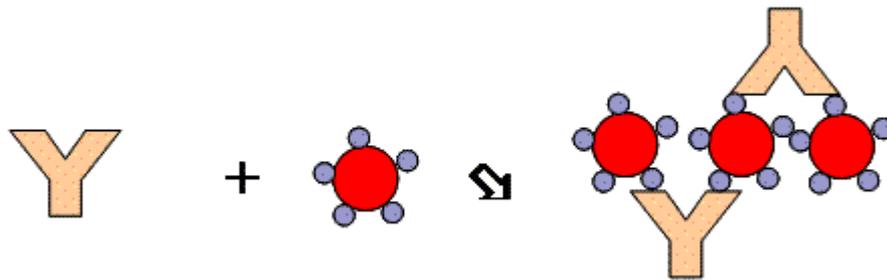
Esta técnica puede ser:

- Cualitativa: resultado positivo o negativo.
- Cuantitativo: sí se hace una dilución seriada del suero y se calcula el título de Ac. Título de Ac es la inversa de la máxima dilución del suero que da positiva la reacción de aglutinación.

Dependiendo de la conformación del Ag, se pueden distinguir dos tipos básicos de aglutinación:

**Aglutinación directa:** Se utilizan Ag formes o particulados en suspensión (bacterias protozoos o esporas). Todos ellos exhiben determinantes antigénicos o epítomos en su periferia.

**FIGURA Nº 32 REACCIÓN DE AGLUTINACIÓN**



FUENTE: <http://epidemiologiamolecular.com/reacciones-hemaglutinacion-lisis/>

### **Inhibición de la hemaglutinación**

Una variante es la inhibición de la hemaglutinación (IHA), en la que los posibles Ac existentes en la muestra problema son neutralizados previamente, por lo que la lectura de resultados se interpreta en sentido contrario a la hemaglutinación:

- REACCIÓN POSITIVA: presencia de botón (aglutinado).
- REACCIÓN NEGATIVA: aparición de velo.

Esta técnica se usa para diagnosticar microorganismos que por sí solos son capaces de aglutinar glóbulos rojos, como el virus de la rubéola. Sí en el suero del enfermo hay Ac contra el virus de la rubéola, se produce un

bloqueo de los virus y se inhibe la aglutinación. La ausencia de aglutinación se interpreta como **POSITIVO**, porque hay Ac contra el virus de la rubéola<sup>14</sup>.

#### 2.2.4.4. Prueba antiglobulínica directa.

La prueba de Coombs directa es positiva cuando los hematíes del paciente han sido sensibilizados en su propio organismo esta se utiliza para diagnosticar aquellas condiciones en que los hematíes del paciente fueron expuestos a los antígenos específicos por transfusiones incompatibles o embarazos incompatibles, su utilidad esta:

- Enfermedad hemolítica del recién nacido.
- Anemia hemolítica autoinmune.
- Anemia hemolítica inducida por fármacos.
- Reacciones transfusionales.

Las pruebas que valoran los anticuerpos irregulares se mide en tres fases las denominadas salina, liss y Coombs, existen posibilidades de inducir a resultados falsos positivos como falsos negativos, dentro de los falsos positivos están por auto anticuerpos fríos, defectos de la técnica anticuerpos inespecíficos y la presencia de hematíes espolio rutina los resultados falsos negativos se da debido a las fallas o problemas técnicos que se emplean en la realización de la prueba como son por ejemplo olvidarse de añadir el reactivo contaminación del reactivo de Coombs.

Todo ensayo falso negativo puede ser detectado si se añade hematíes sensibilizados con IgG a los tubos quedan resultados negativos, dichos hematíes control sólo serán aglutinados si el suero de antiglobulina que ya contiene el tubo permanece activo, si los hematíes sensibilizados no aglutina el resultado del ensayo carece de valor y debe repetirse.

---

14 ( PEREZ, A FERRER, LA MEDICINA TRANSFUSIONAL, MEDIOS DE REACCIÓN CAP. 6 PÀG, 65-87)

## ESQUEMA DE LA REALIZACIÓN DE LA PRUEBA DE COOMBS DIRECTA.

TUBOS	MUESTRA	AHG
P	1 GOTA	2 GOTAS
<b>CENTRIFUGAR Y LEER</b>		
<b>RESULTADOS NEGATIVOS</b>		
TUBOS	CELULAS CONTROL DE COOMBS	
P	1 GOTA	
<b>CENTRIFUGAR Y LEER</b>		

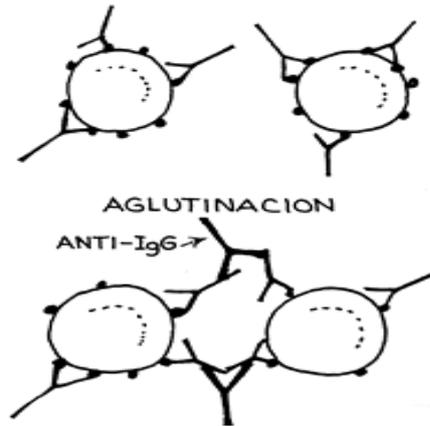
*FUENTE: DISEÑO MÓNICA ALAJO*

### 2.2.4.5. Prueba antiglobulínica indirecta:

La fijación de anticuerpos de tipo IgM a los hematíes generalmente produce aglutinación, por lo contrario los anticuerpos de tipo IgG se fijan a los hematíes pero generalmente no producen aglutinación, este proceso de las inmunoglobulinas IgG se denomina sensibilización puede detectarse mediante la técnica de Coombs o llamada también antiglobulínica.

La prueba de Coombs indirecto detectan anticuerpos o al complemento unido a la célula también denota la sensibilización y Vitro en cuyo caso el anticuerpo o el complemento actúan como un antígeno para el reactivo de antiglobulina, la aglutinación en esta prueba se produce porque el anti-IgG o el anti-Ce se une a la IgG o al C3 humano que a su vez está unido a hematíes actuando como un puente.

### **FIGURA Nº 33 HEMATÍES SENSIBILIZADOS**



**FUENTE: TRANSFUSIÓN SANGUÍNEA BASES TEÓRICAS Y APLICACIÓN CLÍNICA – J.C KELTON**

Esta prueba es utilizada:

**Detección de anticuerpos en suero problema:** el suero del paciente es incubado con hematíes de fenotipo conocido para detectar en aquel anticuerpo dirigido contra un antígeno eritrocitario específico.

**Determinación de fenotipos:** un anticuerpo de especificidad conocida se incuba con los hematíes problema para identificar en estos antígenos específicos de grupos sanguíneos.

**Pruebas cruzadas:** el suero o plasma de un paciente se incuba con los hematíes de un posible donante para detectar anticuerpos que podrían reducir la supervivencia de los hematíes transfundidos.

## ESQUEMA DE LA PRUEBA DE COOMBS INDIRECTO.

TUBOS	MUESTRA	CÉLULAS REACTIVAS
<b>FASE SALINA</b>		
1	2 GOTAS	1
2	2 GOTAS	1
3	2 GOTAS	1
<b>CENTRIFUGAR 3500 RPM</b>		
<b>FASE LISS</b>		
1	4 GOTAS	INCUBAR 37 °C POR 8 MINUTOS
2	4 GOTAS	
3	4 GOTAS	
<b>CENTRIFUGAR 3500 RPM</b>		
<b>LAVAR CADA TUBO TRES VECES</b>		
1	SOLUCIÓN SALINA ISOTÓNICA	
2		
3		
<b>FASE COOMBS</b>		
1	2 GOTAS	SUERO DE COOMBS
2	2 GOTAS	
3	2 GOTAS	
<b>RESULTADOS NEGATIVOS</b>		
1	1 GOTA	CÉLULAS CONTROL DE COOMBS
2	1 GOTA	
3	1 GOTA	

*FUENTE: DISEÑO MÓNICA ALAJO*

Las casas comerciales ofertan diversidades reactivos unos a costos diferentes de otros con limitaciones o excepciones técnicas, la solución empleada de manera muy frecuente es la de baja fuerza y iónica en la práctica las incubación es en tiempos edad de 15 minutos pero en situaciones de emergencia para transfusiones o diagnóstico de incompatibilidades se reduce la el tiempo de incubación a ocho minutos aumentando el efecto de dosis de este potenciador, se recuerda que las inmunoglobulinas de tipo irregular actúan a 37 °C y es así como se puede evidenciarse a través de la reacción de aglutinación su presencia.

Estos potenciadores de reacción pueden perder su capacidad reacción ante si no hay una adecuada conservación si no se aplica una correcta

técnica y si la muestra de sangre evaluarse no cumple con las especificaciones de la casa comercial, en conjunto si no se tiene cuidado en la parte operativa también se limitará estos potenciadores y serán causantes de reportes falsos positivos como falsos negativos es por ello que esta selectividad de potenciador se le acompaña con evaluación de la conservación a través de la cadena de frío monitorizando día a día la variación de la temperatura que permite la conservación.

## DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

**Aglutinación.-** Proceso por el cual los glóbulos rojos se unen y ligan entre sí.

**Aloinmunización.-** Respuesta inmune en la cual en presencia de antígenos extraños, el organismo produce anticuerpos.

**Anticuerpo.-** Proteína protectora producida por la respuesta inmune de un individuo estimulado por una sustancia extraña generalmente proteica. Actúa en la defensa contra los patógenos, a menudo por neutralización o identificación de un agente que debe ser eliminado.

**Anticuerpo natural.-** Anticuerpo que aparece en el torrente sanguíneo en ausencia de estimulación antigénica conocida.

**Antígeno.-** Cualquier sustancia reconocida por el organismo como extraña, que estimula una respuesta inmune.

**Bancos de Sangre:** Son unidades o servicios de salud que realizan la promoción de la donación voluntaria altruista repetitiva y no remunerada, colecta de sangre en un establecimiento fijo, fraccionamiento de unidades de sangre, análisis de laboratorio, control y validación y distribución de los componentes sanguíneos a los Servicios de Medicina Transfusional. Trabajan coordinadamente con los Hemocentros.

**Comité Nacional de Sangre:** Es un órgano técnico-asesor del Ministerio de Salud Pública, encargado de velar por el cumplimiento de los procedimientos técnicos y de administración sanitaria para el suministro de componentes sanguíneos y Hemoderivados seguros. El Comité deberá estar constituido por profesionales reconocidos con amplia experiencia en la práctica transfusional, y personas involucradas en los aspectos clínicos de la transfusión y que además estén dispuestos a dedicar tiempo y esfuerzo en la consecución de los objetivos y funciones.

**Epitopo:** sitio de reconocimiento del antígeno por un anticuerpo.

**Hemovigilancia:** Es el conjunto de procedimientos de vigilancia organizados que cubren la cadena de transfusión entera, desde la colecta de la Sangre y sus componentes hasta el seguimiento de los receptores, con vista a recoger y evaluar la información sobre efectos inesperados o indeseables, que resulten de la utilización terapéutica de los componentes sanguíneos para prevenir sus apariciones.

**Hemoderivados:** Los productos obtenidos mediante procesos industriales para aplicación terapéutica, diagnóstica, preventiva o en investigación.

**Haptenos:** sitios antigénicos que no son capaces de inducir a una respuesta inmune

**Hemocomponentes Terapéuticos.-** elementos constitutivos de la sangre (glóbulos rojos, glóbulos blancos, plaquetas, plasma) que pueden prepararse mediante diversos métodos

**Paquete globular leucorreducido:** Llamado también «Concentrado de hematíes des leucocitado». Se obtiene por procedimientos físicos (centrifugación y retiro del buffy coat, lavado, filtros especiales, etc) que permiten reducir la cantidad de leucocitos «contaminantes» a un nivel mínimo en el que no generen reacciones indeseables en el receptor.

**RAD:** Las reacciones adversas a la donación (RAD) de sangre total o por aféresis son respuestas inesperadas que afectan el bienestar físico y emocional de los/las donantes. Se asocian con la extracción misma de parte de la volemia del individuo, o bien, con las condiciones técnicas propias de los instrumentos (para el caso de aféresis) y con la destreza del personal de salud durante el procedimiento de la flebotomía.

**RAT:** Una reacción adversa transfusional (RAT) es una respuesta indeseada e imprevista asociada a la transfusión de sangre, sus

componentes o derivados, que se presenta durante o después de la transfusión y afecta la seguridad del/la paciente-receptor.

**Reacciones transfusionales:** Son todos los efectos adversos que ocurren durante o después de una transfusión de sangre o sus componentes.

**Servicio de Medicina Transfusional:** Son unidades que realizan promoción de la donación voluntaria altruista, repetitiva y no remunerada, almacenan componentes sanguíneos, realizan pruebas pre transfusionales, despachan componentes sanguíneos y realizan hemo vigilancia. Se localizan en los Centros de Salud-C, Hospitales del Día y Hospitales Básicos.

**Servicios de Sangre:** Son servicios que promocionan la donación voluntaria y no remunerada de sangre, colectan, procesan, distribuyen y usan los componentes sanguíneos. Pueden ser parte del Ministerio de Salud, del IESS, de las Fuerzas Armadas, Policía, del sector privado con o sin fines de lucro.

**Sangre:** Es un tejido líquido, conformado por plasma, y elementos figurados, dentro de los cuales se hallan los glóbulos rojos, leucocitos y las plaquetas.

**Servicio de sangre:** toda estructura u organismo que participe en cualquier aspecto de la extracción y verificación de la sangre humana o sus componentes, sea cual sea su destino, y del tratamiento, almacenamiento y distribución cuando el destino sea la transfusión.

**Sangre total reconstituida:** Es la unidad de sangre de 450cc de volumen aproximadamente, resultante de la unión de una unidad de paquete globular y un volumen correspondiente de plasma fresco congelado, procedentes no necesariamente del mismo donante. Debe ser usada

dentro de las 24 horas de su preparación; en caso contrario, deberá eliminarse.

**Transfusión:** Es el procedimiento de administración de sangre y componentes sanguíneos el cual deberá quedar debidamente registrado en la historia clínica del paciente por parte del médico o médica/a tratante, constando los siguientes datos: Número de unidades, tipo y código de la unidad del donante.

**Concentrado de plaquetas (CP):** Es el hemocomponente resultante de extraer de la unidad de sangre total la masa eritrocitaria, la mayor parte del plasma así como de leucocitos; contiene  $5.5 \times 10^{10}$  plaquetas en un volumen de 30 a 50cc aprox. y es el único hemocomponente que se conserva a temperatura ambiente y en agitación constante, tiene una duración máxima de 5 días.

## **ABREVIATURAS.**

**Ags:** antígenos.

**Ac:** anticuerpos.

**AHAI:** Anemia Hemolítica Auto Inmune.

**BCR:** Linfocitos B receptores

**Carrier:** molécula transportadora.

**CCP:** Concentrado de complejo protrombínico

**CCV:** Cirugía cardiovascular

**CGR:** Concentrado de glóbulos rojos

**CID:** Coagulopatía Intravascular Diseminada

**CMV:** Citomegalovirus

**CP:** Concentrado de plaquetas

**CPC:** Cirugías de Puentes Coronarios.

**CRIO:** Crio precipitado

**Epo:** Eritropoyetina.

**EXT:** Exo-sanguíneo-transfusión.

**GR:** Glóbulos rojos

**HLA:** Antígenos de Leucocitos Humanos.

**LES:** Lupus eritematoso sistémico.

**PAI:** Prueba antiglobulínica directa

**SP:** Sustancia Precursora.

**TCR:** Linfocitos T receptores.

**SNC:** Sistema nervioso central.

**TAN:** Transmisión aloinmune neonatal

**TM:** Transfusión Masiva

**TP:** Tiempo de Protrombina

**TTPa:** Tiempo Parcial de Tromboplastina Activada

**UCI:** Unidad de cuidados intensivos

**VM:** Volumen minuto.

**vW:** Enfermedad de Von Willebrand

### 2.3. HIPÓTESIS Y VARIABLES.

#### 2.3.1. Hipótesis.

La selección adecuada de los potenciadores de reacción puede mejorar la identificación de los anticuerpos inespecíficos realizados en las pruebas antiglobulínicas mediante la valoración de la intensidad de reacción.

#### 2.3.2. Variables

##### **VARIABLE INDEPENDIENTE.**

Selección de Potenciadores.

##### **VARIABLE DEPENDIENTE.**

Identificación de anticuerpos inespecíficos.

## 2.4. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	CONCEPTO	CATEGORÍA	INDICADORES	TÉCNICAS E INSTRUMENTO
<b>Independiente:</b> Selección de Potenciadores de reacción.	Medios de reacción que facilitan el encuentro del antígeno con su correspondiente anticuerpo.	Medios de Reacción.	Reacción de hemaglutinación .	Técnica Observación. Instrumento
<b>Dependiente:</b> Identificación de anticuerpos inespecíficos.	Proteínas que resultan de un estímulo antigénico de los glóbulos rojos	Anticuerpos irregulares.	Reacción de hemaglutinación	Técnica Observación. Instrumento

## **CAPITULO III**

### **3. MARCO METODOLÓGICO**

#### **3.1. MÉTODO CIENTÍFICO**

Se utiliza el método científico porque abarca un conjunto de pensamientos universales innecesarios con cualidades importantes en el aporte de los servicios transfusionales cuyo trabajo está relacionado a la terapia con la transfusión de sangre y sus derivados como método científico está constituido por leyes principios normas y reglas que conforman un conjunto de conocimientos sistemáticos ligados a la vialidad, medibles para concluir y recomendar cambios que se requieran ante la realidad de los hechos en beneficio del bienestar de los pacientes sometidos a evaluaciones Inmunoematológicas o a transfusiones, esto permite que en el desarrollo del trabajo se plantea hipótesis leyes y teorías a confirmarse o a manipularse.

#### **MÉTODO DEDUCTIVO- INDUCTIVO:**

Se aplica el método deductivo inductivo debido a que cualquier área del conocimiento radica en poder plantear hipótesis leyes y teorías para alcanzar una comprensión más amplia y profunda del origen desarrollo y transformación de los fenómenos y no quedarse únicamente en hechos empíricos captados a través de la experiencia, en la inducción va de los hechos particulares a las afirmaciones de carácter general esto implica que los resultados pasan por observaciones hubo experimentaciones que se involucran en el planteamiento de la hipótesis leyes y teorías y la deducción permite llegar al objetivo de evaluación mediante la medición de leyes y principios que también son observables cuantificables y manipula así como se plantea en el tema los potenciadores de reacción permiten la valoración de la anticuerpos irregulares sin embargo cuál de estos son los más apropiados y bajo qué condiciones se justifica la utilización de unos y de otros no.

## **LA APLICACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO.**

Se utiliza el método analítico debido a que permite la desmembración de un todo para descomponer en cada una de sus partes o elementos que lo constituye objetos a ser observados medibles buscando causas, naturaleza y los efectos que ocasiona es por ello que el tema de la selectividad de los potenciadores de reacción van a permitir evaluar bajo ciertas condiciones como son de temperatura calidad de la muestra efecto de dosis o cantidad de reactivos y muestras utilizables considerando la causa o el motivo que conlleva a un determinado paciente a la realización de estas pruebas

### **3.1.1. Tipo de investigación**

La investigación se caracteriza por ser de tipo descriptiva- explicativa de campo no experimental.

#### **DESCRIPTIVA.**

El tipo de investigación utilizada es descriptiva debido a que permite detallar los elementos que componen al tema de estudio basados en marcos científicos comprobados y a y demostrados en algunas situaciones o condiciones, sustenta el porqué de la importancia de realizar la selectividad de los potenciadores para garantizar resultados que permiten apoyar al diagnóstico y evaluación del paciente en el que se valora la presencia de anticuerpos irregulares.

#### **EXPLICATIVA.**

Debido a que satisface las necesidades con las que se sustenta la base teórica y se plantea las soluciones para poder obtener resultados confiables y que se relacionen con ensayos en las cuales se denoten la variación de resultados como efecto de una selección inapropiada o por factores que no permiten la conservación adecuada de estos medios de reacción

### 3.1.2. Diseño de investigación

Esta investigación fue de campo no experimental

**DE CAMPO** Debido a que el proceso investigativo se llevara a cabo en un lugar específico en este caso en el laboratorio de Inmunohematología del Servicio de Medicina Transfusional del H.P.G.D.R, lugar donde se dan los fenómenos de estudio

### 3.1.3. Tipo de estudio.

**Transversal:** Porque se realizó durante un período corto de tiempo, desde Agosto 2013, hasta Enero 2014.

## 3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA

### 3.2.1. Población

La presente investigación está constituida por 114 estudios de pacientes sometidos a pruebas antiglobulínicas directa e indirecta con resultados positivos.

### 3.2.2. Muestra

Por tratarse de una población pequeña no se trabaja con muestra si no que se trabaja con toda la población.

## 3.3. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

### **TÉCNICAS**

Observación

Análisis documental.

Recopilación bibliográfica

## **INSTRUMENTOS:**

Técnicas para la realización de las pruebas de Coombs.

Registro para el control de temperatura.

Técnica para la valoración de la intensidad de reacción de los potenciadores.

## CAPITULO IV.

### 4. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.

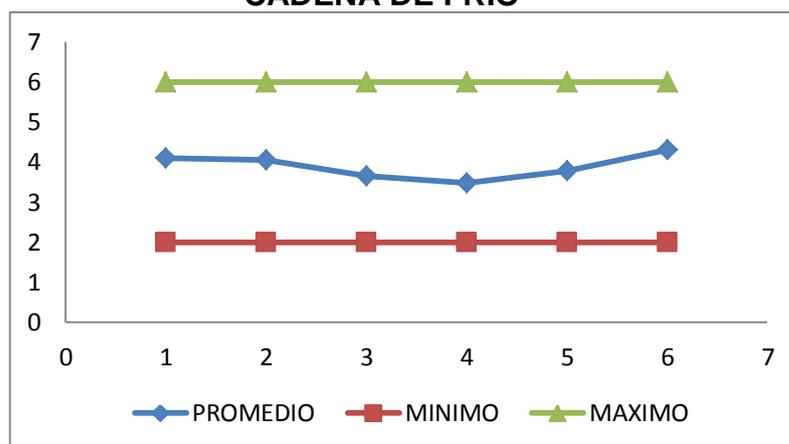
**TABLA Nº 1 REGISTRO DE LA CADENA DE FRIO PARA CONSERVAR LOS POTENCIADORES EMPLEADOS EN LAS PRUEBAS ANTIGLOBULÍNICAS**

MES	PROMEDIO	MÍNIMO	MÁXIMO
AGOSTO	4,1	2	6
SEPTIEMBRE	4,05	2	6
OCTUBRE	3,65	2	6
NOVIEMBRE	3,48	2	6
DICIEMBRE	3,78	2	6
ENERO	4,3	2	6

DISEÑO: MÓNICA ALAJO.

FUENTE: SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR

**GRÁFICA Nº 1 REPRESENTACIÓN GRAFICA DEL REGISTRO DE LA CADENA DE FRIO**



DISEÑO: MÓNICA ALAJO.

FUENTE: SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR

**INTERPRETACIÓN.-** Los medios de reacción, potenciadores y reactivos empleados en los servicios de sangre deben tener una conservación adecuada y respaldada con el monitoreo permanente, en los seis meses de estudio se registran promedios de 3 a 4 grados centígrados, lo que indica que están en los intervalos correctos para preservar la calidad de los reactivos, considerando que el rango inferior es de 2°C y el superior de 6 °C.

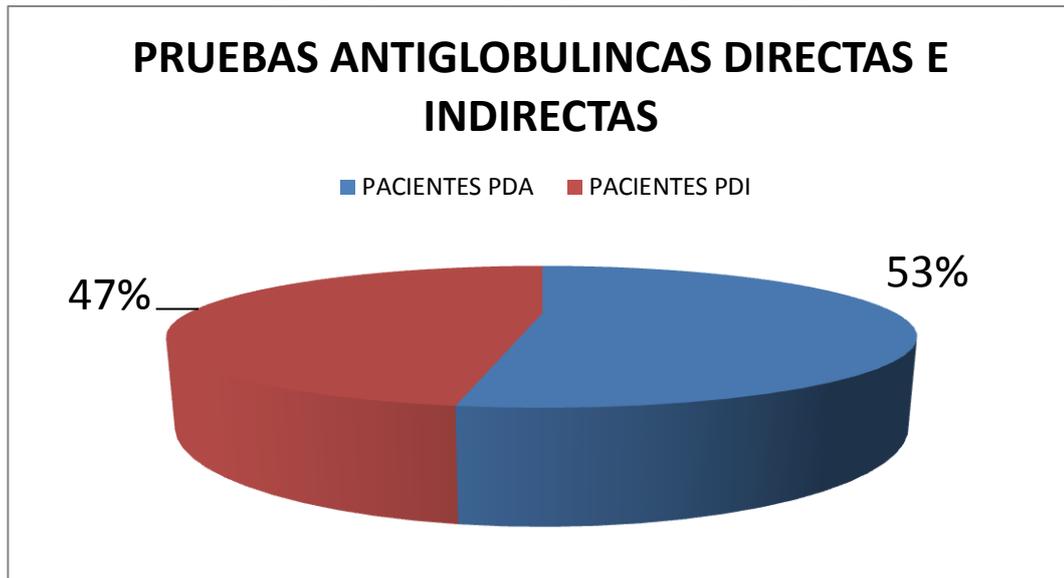
**TABLA Nº 2 REGISTRO DE LAS PRUEBAS ANTIGLOBULÍNICAS DIRECTAS E INDIRECTAS**

MUESTRAS	FRECUENCIA	PORCENTAJE
PACIENTES PDA	60	53%
PACIENTES PDI	54	47%
TOTAL	114	100%

*DISEÑO: MÓNICA ALAJO.*

*FUENTE: SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR*

**GRÁFICA Nº 2 REPRESENTACIÓN GRAFICA DE LAS PRUEBAS ANTIGLOBULÍNICAS DIRECTAS E INDIRECTAS**



*DISEÑO: MÓNICA ALAJO.*

*FUENTE: SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR*

### **INTERPRETACIÓN.-**

La población estudiada, incluye 60 pacientes femeninas representando el 52.6 % y, 54 pacientes masculinos, representando el 49.4 %. Se interpreta la importancia en ambos géneros.

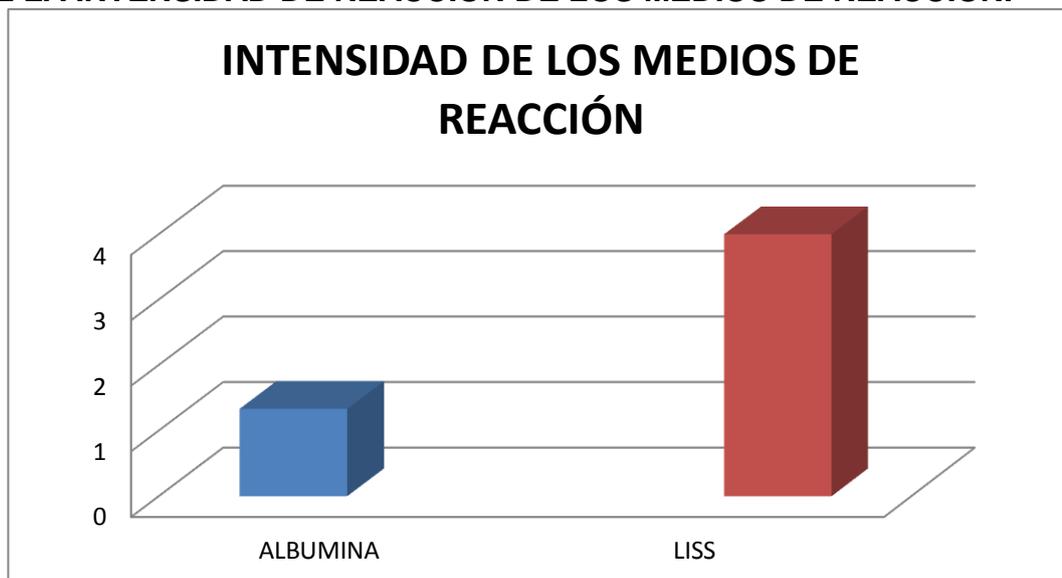
**TABLA Nº 3 REGISTRO DE LA VALORACIÓN DE LA INTENSIDAD DE REACCIÓN DE LOS POTENCIADORES UTILIZADOS EN LAS PRUEBAS ANTIGLOBULÍNICAS.**

ALBUMINA	LISS
1,33	4

*DISEÑO: MÓNICA ALAJO.*

*FUENTE: SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR*

**GRÁFICA Nº 3 REPRESENTACIÓN GRAFICA DE LA VALORACIÓN DE LA INTENSIDAD DE REACCIÓN DE LOS MEDIOS DE REACCIÓN.**



*DISEÑO: MÓNICA ALAJO.*

*FUENTE: SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR*

**INTERPRETACIÓN.-** La valoración de la intensidad de reacción, permite evaluar la condición del potenciador para identificar la presencia aun mínima de anticuerpos en las muestras de plasma o suero a estudiarse, el promedio de intensidad de reacción a diluciones 1 en 64 con la albumina bovina es de 1 cruz, lo que limita las interpretaciones en aquellas condiciones clínicas donde empieza la titulación de anticuerpos esto a relación de las intensidad de reacción valorada con la solución de LISS a 4 cruces, este es un excelente evaluador de anticuerpos.

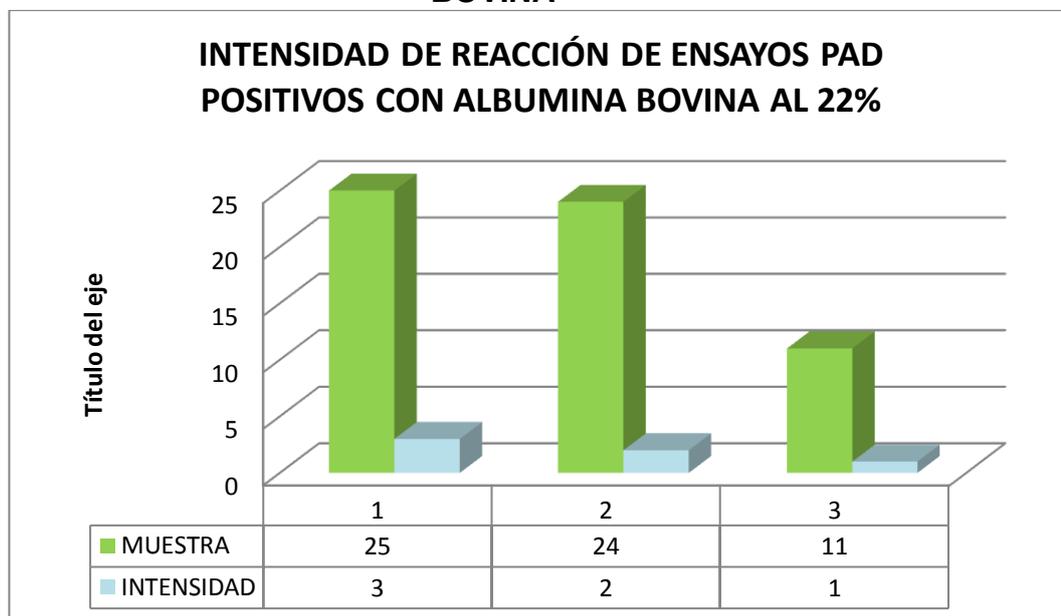
**TABLA Nº 4 REGISTRO DE PRUEBAS ANTIGLOBULÍNICAS DIRECTAS Y SU RELACIÓN CON LA INTENSIDAD DE REACCIÓN EMPLEANDO ALBÚMINA BOVINA**

MUESTRAS	INTENSIDAD
25	3
24	2
11	1
<b>TOTAL 60</b>	

DISEÑO: MÓNICA ALAJO.

FUENTE: SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR

**GRÁFICA Nº 4 REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LA PRUEBA ANTIGLOBULÍNICA DIRECTA CON EL EMPLEO DE ALBÚMINA BOVINA**



DISEÑO: MÓNICA ALAJO.

FUENTE: SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR

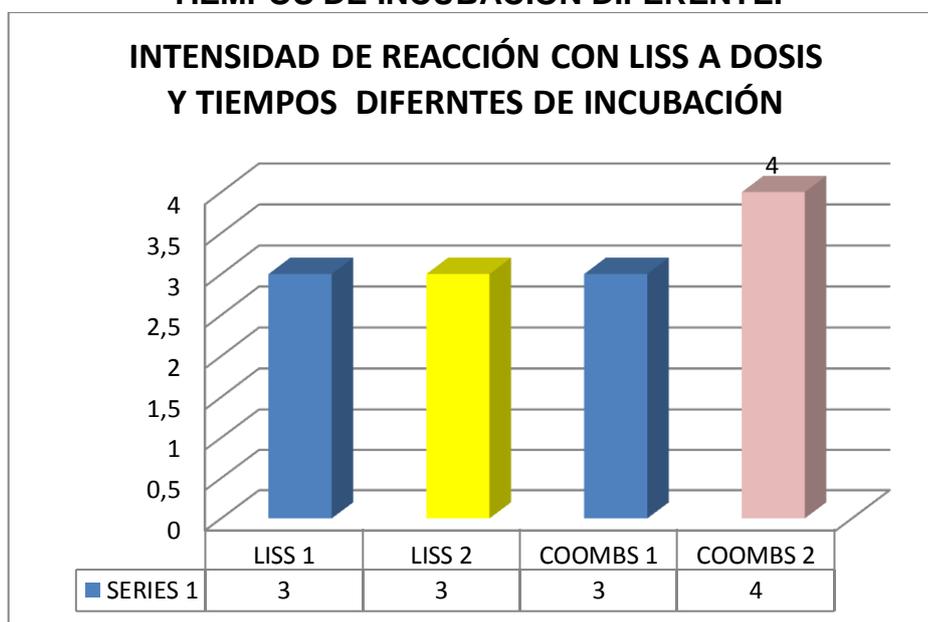
**INTERPRETACIÓN.-** Al emplear albumina bovina en la prueba de Coombs directa, se observa que las intensidades de reacción en 25 determinaciones son de 3 cruces un resultado confiables, pero en 24 ensayos decae la intensidad de reacción a 2 cruces y más aún en 11 ensayos evaluados positivamente a 1 cruz de intensidad, lo que puede ocasionar a reportes falsos positivos si no se tienen la suficiente experiencia en la lectura de los ensayos.

**TABLA Nº 5 REGISTRO DE ENSAYOS ANTIGLOBULÍNICOS INDIRECTOS CON EL EMPLEO DE LISS INCUBADOS a 37 °C, VARIANDO EL EFECTO DE DOSIS Y TIEMPO DE INCUBACIÓN.**

MUESTRAS	LISS 1	LISS 2	COOMBS 1	COOMBS 2
54	3	3	3	4

*DISEÑO: MÓNICA ALAJO.*  
*FUENTE: SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR*

**GRÁFICA Nº 5 REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LOS ENSAYOS ANTIGLOBULÍNICOS AL EMPLEAR LISS CON EFECTOS DE DOSIS Y TIEMPOS DE INCUBACIÓN DIFERENTE.**



*DISEÑO: MÓNICA ALAJO.*  
*FUENTE: SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR*

**INTERPRETACIÓN.-** Los ensayos antiglobulínicos empleado LISS denotan una mejor apreciación en la intensidad de reacción, esto se sustenta al validar el potenciador como se demuestra en la gráfica de la tabla dos, estos ensayos se ha hecho una comparación al incubar a 37°C pero a tiempos de 15 y 8 minutos, en el primero la cantidad de LISS dispensado es de 2 gotas y en el segundo tiempo de 4 gotas, la intensidad es la misma pero mejora en la fase de Coombs a 4 cruces las incubas 8 minutos con 4 gotas de LISS.

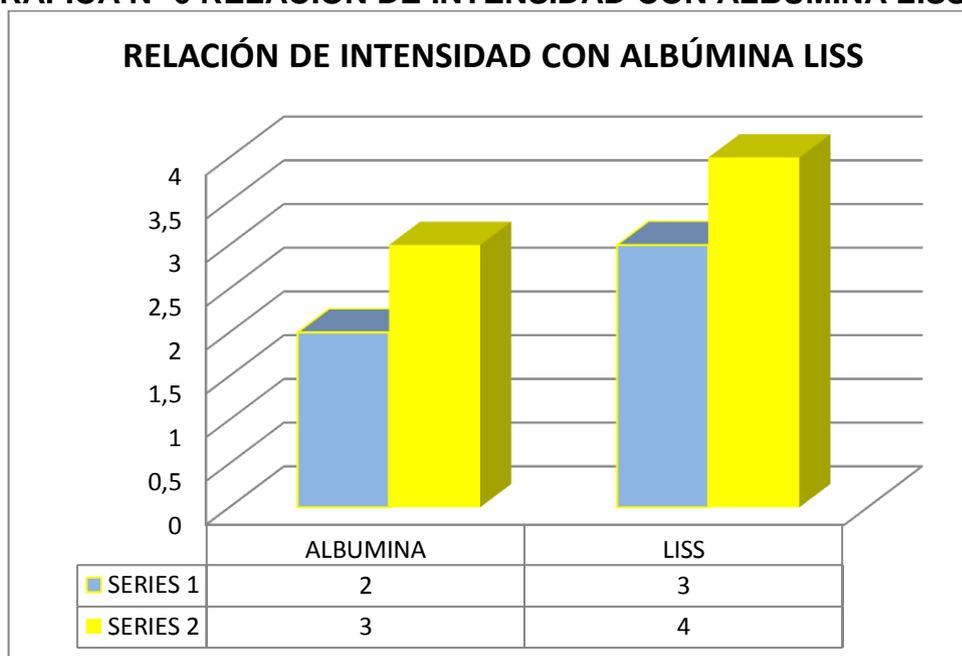
**TABLA Nº 6 COMPARACIÓN DE LA INTENSIDAD DE REACCIÓN CON ALBUMINA BOVINA Y LISS.**

ALBUMINA	LISS
2	3
3	4

*DISEÑO: MÓNICA ALAJO.*

*FUENTE: SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR*

**GRÁFICA Nº 6 RELACIÓN DE INTENSIDAD CON ALBÚMINA LISS**



*DISEÑO: MÓNICA ALAJO.*

*FUENTE: SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR*

**INTERPRETACIÓN.-** Se relaciona resultados mediante la intensidad de reacción al emplear LISS y albúmina, es notable como incrementa el título de reacción que va de 3 y 4 cruces de intensidad al emplear LISS, esto es mejorado cuando los anticuerpos evaluados pasan a la fase Coombs, ahora el título de reacción es de 4 cruces a diferencia del empleo de albúmina bovina con intensidades de reacción de 2 y 3 cruces.

## **CAPITULO V.**

### **5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.**

#### **5.1. CONCLUSIONES.**

- La vigilancia de la conservación de los medios de reacción a temperaturas óptimas permiten que los reactivos empleados en las pruebas antiglobulínicas actúan en las reacciones a favor de la condición y presencia de los anticuerpos evaluados.
- Valorar la intensidad de reacción de los potenciadores o reactivos, es un procedimiento de calidad que permite garantizar el empleo de potenciadores adecuados, sobre todo cuando se enfrentan a sueros o plasma con títulos bajos de anticuerpos, el título considerable de reacción es de 4 cruces a diluciones de 1: 32, esto indica que se está trabajando con un buen potenciador de reacción.
- El uso de LISS como potenciador de reacción resulta ser el más apropiado, debido a que en los registros obtenidos el título de reacción incrementa a diferencia del uso de la albúmina, se puede emplear LISS con un efecto de dosis de 4 gotas y reducir el tiempo de incubación a 8 minutos, esto aporta a la entrega inmediata de resultados o a la entrega de sangre a transfundirse, en los casos de emergencia.

#### **5.2. RECOMENDACIONES.**

- Es importante documentar o registrar los intervalos de las temperaturas evaluadas diariamente, para así asegurar una temperatura óptima de conservación, los intervalos debe estar en mínimo 2°C a máximo 6°C, se debe registrar por lo menos tres veces al día.
- Se recomienda que la valoración de la intensidad de reacción se lo haga antes de usar cada frasco y cuando el consumo este

en la mitad, debido a que a factores como la temperatura de conservación o el dejar mucho tiempo a temperatura ambiente deteriora la potencia de estos medios de reacción.

- Empleando solución LISS para la realización de las pruebas de Coombs y pruebas de compatibilidad, el resultado es mejorado en la visualización de la reacción de aglutinación sobre todo cuando se trabaje con muestras que titulen baja concentración de anticuerpos, no se recomienda reducir el tiempo de incubación porque permite esto enmascarar anticuerpos y los resultados serían falsos negativos, si se aumenta el efecto de dosis puede bloquear la unión antígeno anticuerpos y provocar nuevamente un falso negativo.

## **BIBLIOGRAFÍA.**

ABBAS ABUL K. Inmunología Celular y Molecular, Séptima edición, 2012

ABBAS ABUL K. Inmunología Celular y Molecular, Quinta edición, 2006.

Dr. Linares Jesús, Inmunohematología Básica Aplicada en el Banco de Sangre, Venezuela, 2006

Dr. Linares Jesús, Inmunohematología y Terapia Transfusional, Venezuela 2004

Dr. Salomón Grispan, Literatura grupos sanguineos ABO Y RH.

GOMEZ, TORREBLANCA, Andrés Jesús, Grupos Sanguíneos/Historia y Evolución, año 2010.

H. RODRIGUEZ, Moyado, El Banco de Sangre y La Medicina Transfusional, Editorial Panamericana, 2010.

JARAMILLO, Fernando Lic. Normas y Principios Aplicados a la Medicina Transfusional, 2010.

KELTON J.C. Transfusión Sanguínea Bases Teóricas Y Aplicación Clínica, Ediciones Doyma, Buenos Aires Argentina, 15 Edición 2008.

LEONARDO FAINBOIM / JORGE GEFFNER, Introducción a la Inmunología Humana, Edición: 6ª especialidad: inmunología páginas: 584.

ROJAS, William M. Inmunología, décima tercera edición, Corporación para la investigación Biológica, Medellin Colombia, 2004.

Sangre Y Componentes Seguros, Guía y Principios Para Una Practica Transfusional Segura – Oms, 2008.

PEREZ, A Ferrer, La Medicina Transfusional, Editorial Médica Panamericana, 2009.

WILIAM Rojas M. Inmunología, 13 edición, Cap. 9 antígenos.

## LINCOGRAFÍA.

[http://www.ehowenespanol.com/del-cloruro-potasio-solucion-salina-sobre\\_393720/](http://www.ehowenespanol.com/del-cloruro-potasio-solucion-salina-sobre_393720/)

<http://www.ehu.es/~oivmoral/IOtema4.html>

<http://html.rincondelvago.com/tecnica-inmunohistoquimica.html>

<https://rostlab.org/services/epitome/background.html>

<http://html.rincondelvago.com/tecnica-inmunohistoquimica.html>

<http://exa.unne.edu.ar/bioquimica/inmunoclinica/documentos/Antigenos.pdf>

[http://clasedeinmunologia.blogspot.com/2007\\_05\\_01\\_archive.html](http://clasedeinmunologia.blogspot.com/2007_05_01_archive.html)

[http://clasedeinmunologia.blogspot.com/2007\\_05\\_01\\_archive.html](http://clasedeinmunologia.blogspot.com/2007_05_01_archive.html)

[ananatura.blogspot.com/2012/09/los-grupos-sanguineos-y-la-alimentacion.html](http://ananatura.blogspot.com/2012/09/los-grupos-sanguineos-y-la-alimentacion.html)

<http://www.cualesonlos.net/2012/01/cuales-son-los-diferentes-grupos-de.html>

<http://www.cualesonlos.net/2012/01/cuales-son-los-diferentes-grupos-de.html>

<http://www.medicinapreventiva.com.ve/laboratorio/grupos.htm>

# **ANEXOS**

## REGISTROS DE TEMPERATURAS

AGOSTOS 2013		
NUMERO	DÍAS	TEMPERATURA
1	5	2
2	6	6
3	7	4
4	8	5
5	9	3
6	12	4
7	13	5
8	14	6
9	15	7
10	16	2
11	19	4
12	20	5
13	21	2
14	22	3
15	23	4
16	26	6
17	27	5
18	28	4
19	29	3
20	30	2

*DISEÑO: MÓNICA ALAJO.*

*FUENTE: SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR*

SEPTIEMBRE 2013		
NUMERO	DÍAS	TEMPERATURA
1	2	4
2	3	3
3	4	2
4	5	6
5	6	4
6	9	5
7	10	2
8	11	3
9	12	4
10	13	5
11	16	6
12	17	2
13	18	5
14	19	5
15	20	6
16	23	4
17	24	2
18	25	3
19	26	4
20	27	6

*DISEÑO: MÓNICA ALAJO.*

*FUENTE: SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR*

OCTUBRE 2013		
NUMERO	DÍAS	TEMPERATURA
1	2	2
2	3	4
3	4	6
4	5	5
5	6	3
6	9	2
7	10	2
8	11	4
9	12	2
10	13	3
11	16	6
12	17	2
13	18	4
14	19	5
15	20	3
16	23	2
17	24	4
18	25	4
19	26	5
20	27	5

*DISEÑO: MÓNICA ALAJO.*

*FUENTE: SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR*

NOVIEMBRE 2013		
NUMERO	DÍAS	TEMPERATURA
1	4	6
2	5	5
3	6	4
4	7	2
5	8	3
6	11	1
7	12	4
8	13	2
9	14	3
10	15	6
11	18	5
12	19	2
13	20	2
14	21	3
15	22	4
16	25	2
17	26	3
18	27	5
19	28	4

*DISEÑO: MÓNICA ALAJO.*

*FUENTE: SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR*

DICIEMBRE 2013		
NUMERO	DÍAS	TEMPERATURA
1	2	2
2	3	2
3	4	3
4	5	5
5	6	5
6	9	6
7	10	2
8	11	4
9	12	2
10	13	3
11	16	6
12	17	7
13	18	4
14	19	5
15	20	2
16	23	2
17	24	5
18	25	2
19	26	4
20	27	5
21	30	4
22	31	3

*DISEÑO: MÓNICA ALAJO.*

*FUENTE: SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR*

ENERO 2014		
NUMERO	DÍAS	TEMPERATURA
1	6	6
2	7	4
3	8	2
4	9	1
5	10	5
6	13	6
7	14	7
8	15	5
9	16	6
10	17	4
11	20	3
12	21	4
13	22	6
14	23	4
15	24	6
16	27	3
17	28	2
18	29	5
19	30	4
20	31	3

*DISEÑO: MÓNICA ALAJO.*

*FUENTE: SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR*

## INTENSIDAD DE REACCIÓN DE POTENCIADORES

ALBUMINA BOVINA								
FRASCOS	1	2	3	4	5	6	7	8
1	4	4	4	4	3	2	1	0
2	4	4	4	4	3	2	1	0
3	4	4	3	3	2	1	1	0
4	4	4	3	3	2	1	1	0
5	4	4	4	3	1	1	1	0
6	4	4	4	2	1	1	1	0

*DISEÑO: MÓNICA ALAJO.*

*FUENTE: SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR*

LISS								
FRASCOS	1	2	3	4	5	6	7	8
1	4	4	4	4	4	4	2	2
2	4	4	4	4	4	4	1	2
3	4	4	4	4	4	4	3	1
4	4	4	4	4	4	4	2	2
5	4	4	4	4	4	4	2	1
6	4	4	4	4	4	4	1	1

*DISEÑO: MÓNICA ALAJO.*

*FUENTE: SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR*

CÉLULAS CONTROL DE COOMBS								
FRASCOS	1	2	3	4	5	6	7	8
1	3	3	3	2	2	1	1	0
2	3	3	3	2	2	1	1	0
3	3	3	3	2	1	1	1	0
4	3	3	3	2	1	1	1	0
5	3	3	3	2	2	1	1	0
6	3	3	3	2	1	1	1	0

*DISEÑO: MÓNICA ALAJO.*

*FUENTE: SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR*

## VALORACIÓN DE LA PRUEBA ANTIGLOBULÍNICA DIRECTA.

MUESTRAS	PAD	INTENSIDAD
1	POSITIVA	3
2	POSITIVA	3
3	POSITIVA	3
4	POSITIVA	2
5	POSITIVA	3
6	POSITIVA	3
7	POSITIVA	2
8	POSITIVA	2
9	POSITIVA	3
10	POSITIVA	3
11	POSITIVA	3
12	POSITIVA	2
13	POSITIVA	2
14	POSITIVA	2
15	POSITIVA	3
16	POSITIVA	3
17	POSITIVA	3
18	POSITIVA	2
19	POSITIVA	2
20	POSITIVA	3
21	POSITIVA	3
22	POSITIVA	1
23	POSITIVA	2
24	POSITIVA	2
25	POSITIVA	2
26	POSITIVA	3
27	POSITIVA	2
28	POSITIVA	1
29	POSITIVA	2
30	POSITIVA	3
31	POSITIVA	3
32	POSITIVA	3
33	POSITIVA	4
34	POSITIVA	2
35	POSITIVA	3
36	POSITIVA	4
37	POSITIVA	4
38	POSITIVA	4
39	POSITIVA	2

<b>40</b>	POSITIVA	3
<b>41</b>	POSITIVA	2
<b>42</b>	POSITIVA	3
<b>43</b>	POSITIVA	3
<b>44</b>	POSITIVA	4
<b>45</b>	POSITIVA	3
<b>46</b>	POSITIVA	2
<b>47</b>	POSITIVA	1
<b>48</b>	POSITIVA	1
<b>49</b>	POSITIVA	1
<b>50</b>	POSITIVA	2
<b>51</b>	POSITIVA	3
<b>52</b>	POSITIVA	4
<b>53</b>	POSITIVA	1
<b>54</b>	POSITIVA	2
<b>55</b>	POSITIVA	3
<b>56</b>	POSITIVA	1
<b>57</b>	POSITIVA	1
<b>58</b>	POSITIVA	2
<b>59</b>	POSITIVA	2
<b>60</b>	POSITIVA	3

*DISEÑO: MÓNICA ALAJO.*

*FUENTE: SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR*

**PRUEBAS ANTIGLOBULÍNICA EMPLEANDO LISS A 15 MINUTOS DE INCUBACIÓN.**

MUESTRAS	SALINA	LISS	COOMBS
1	2	3	3
2	2	3	3
3	3	3	3
4	2	3	3
5	3	3	3
6	2	3	3
7	3	2	3
8	2	2	3
9	2	3	3
10	2	2	3
11	2	3	3
12	3	3	3
13	3	3	3
14	3	3	3
15	4	3	3
16	2	3	3
17	2	3	3
18	2	3	3
19	3	3	3
20	4	3	3
21	4	3	3
22	4	3	3
23	2	3	3
24	3	3	3
25	2	3	3
26	3	3	3
27	2	3	3
28	3	3	3
29	2	3	3
30	3	3	3
31	2	3	3
32	1	3	3
33	1	3	3
34	2	3	3
35	3	3	3
36	1	3	3
37	2	3	3
38	3	3	3

39	2	3	3
40	4	3	3
41	1	3	3
42	2	3	3
43	1	3	3
44	3	2	3
45	2	3	3
46	14	3	3
47	2	3	3
48	3	3	3
49	4	3	3
50	1	3	3
51	2	3	3
52	2	3	3
53	4	3	3
54	2	3	3

*DISEÑO: MÓNICA ALAJO.*

*FUENTE: SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR*

**PRUEBAS ANTIGLOBULÍNICA EMPLEANDO LISS A 8 MINUTOS DE INCUBACIÓN.**

MUESTRAS	SALINA	LISS	COOMBS
1	2	3	4
2	2	3	4
3	3	3	4
4	2	3	4
5	3	3	4
6	2	3	4
7	3	3	4
8	2	3	4
9	2	3	4
10	2	3	4
11	2	3	4
12	3	3	4
13	3	3	4
14	3	3	4
15	4	3	4
16	2	3	4
17	2	3	4
18	2	3	4
19	3	3	4
20	4	3	4
21	4	3	4
22	4	3	4
23	2	3	4
24	3	3	4
25	2	3	4
26	3	3	4
27	2	3	4
28	3	3	4
29	2	3	4
30	3	3	4
31	2	3	4
32	1	3	4
33	1	3	4
34	2	3	4
35	3	3	4
36	1	3	4
37	2	3	4
38	3	3	4

<b>39</b>	2	3	4
<b>40</b>	4	3	4
<b>41</b>	1	3	4
<b>42</b>	2	3	4
<b>43</b>	1	3	4
<b>44</b>	3	3	4
<b>45</b>	2	3	4
<b>46</b>	14	3	4
<b>47</b>	2	3	4
<b>48</b>	3	3	4
<b>49</b>	4	3	4
<b>50</b>	1	3	4
<b>51</b>	2	3	4
<b>52</b>	2	3	4
<b>53</b>	4	3	4
<b>54</b>	2	3	4

*DISEÑO: MÓNICA ALAJO.*

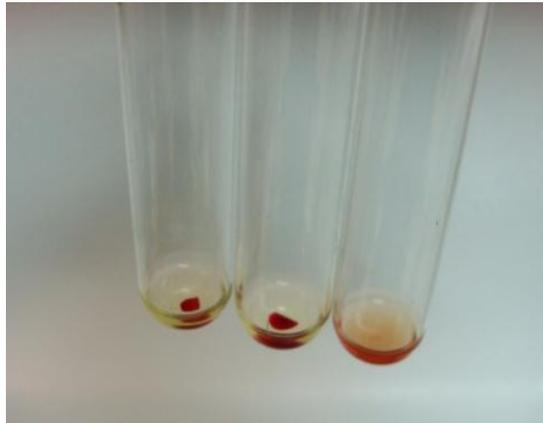
*FUENTE: SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR*

## ESQUEMA DE SE VALORA LA INTENSIDAD DE REACCIÓN

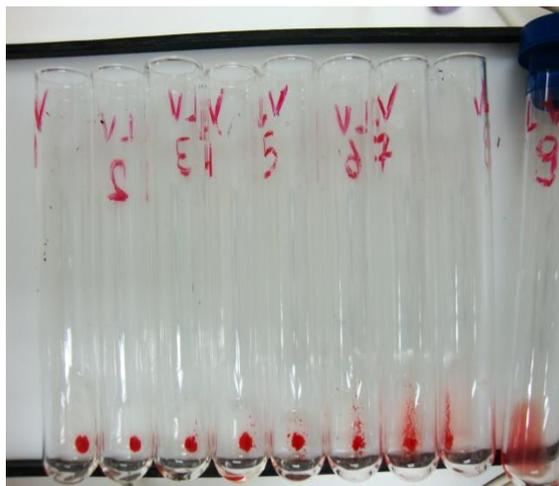
Numero de los Tubos	1	2	3	4	5	6	7	8	C
Al. Bovina 22%	100ul	100ul	100ul						
Anti D/CDE	100ul								
		100ul	100ul	100ul	100ul	100ul	100ul	100ul	
Células	50ul	50ul	50ul						
	4+	4+	4+	4+	4+	4+	3 o 2+	2+	0
Relación	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	

*DISEÑO: MONICA ALAJO.*

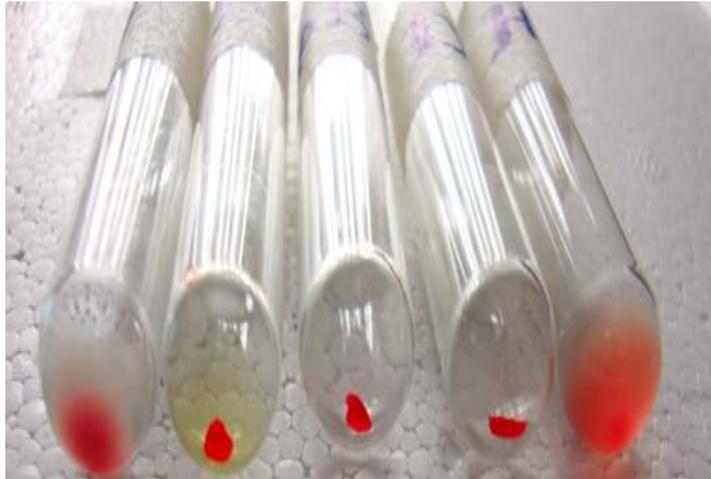
*FUENTE: SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR*



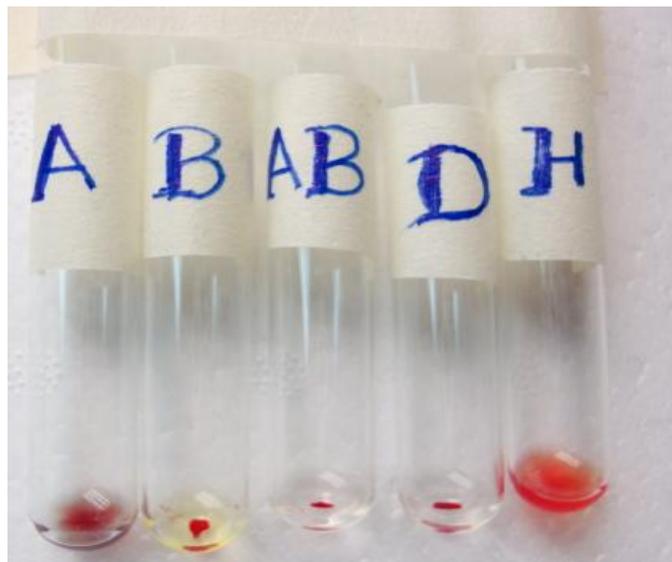
**PAD POSITIVO INTENSIDAD 4 +  
DISEÑO. MÓNICA ALAJO.**



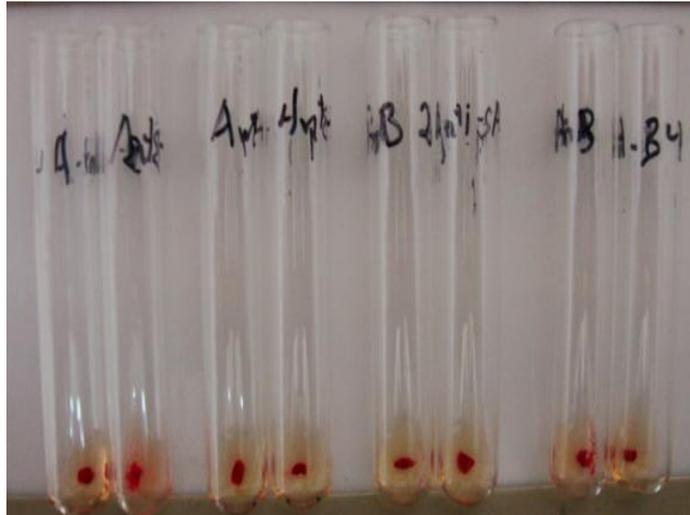
**VALORACIÓN DE LA INTENSIDAD DE REACCIÓN  
DISEÑO. MÓNICA ALAJO.**



**INTENSIDAD DE REACCIÓN**  
**DISEÑO: MÓNICA ALAJO.**



**INTENSIDAD DE REACCIÓN EN LA DETERMINACIÓN DE FENOTIPOS**  
**DISEÑO. MÓNICA ALAJO.**



**REDUCCIÓN DE LA INTENSIDAD DE REACCIÓN  
DISEÑO. MÓNICA ALAJO.**



**REDUCCIÓN DE LA INTENSIDAD DE REACCIÓN  
DISEÑO. MÓNICA ALAJO.**



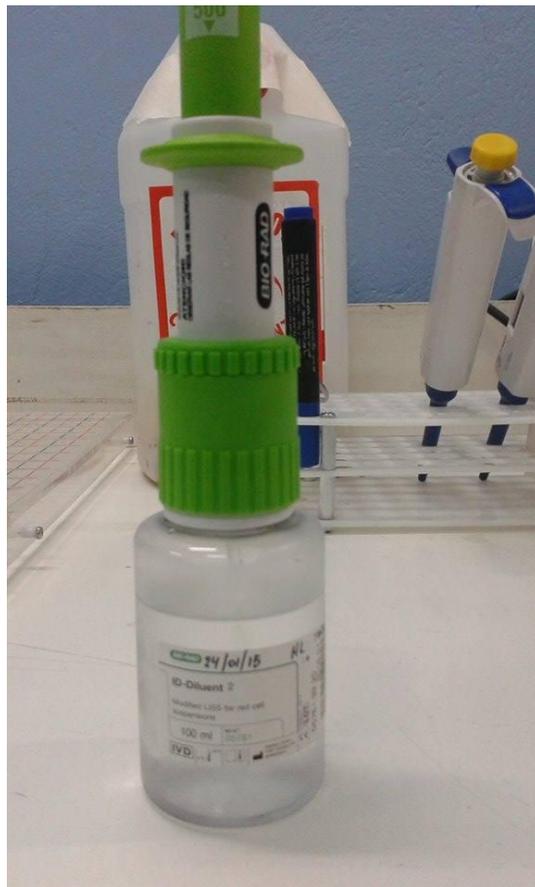
**ÁREA TRANSFUSIONAL DEL HOSPITAL PROVINCIAL  
GENERAL DOCENTE DE RIOBAMBA  
DISEÑO: MÓNICA ALAJO.**



**ÁREA DE DETERMINACIÓN DE PRUEBAS  
ANTIGLOBULÍNICAS  
DISEÑO: MÓNICA ALAJO.**



**REACTIVOS ANTIGLOBULÍNICOS**  
**DISEÑO: MÓNICA ALAJO.**



**SOLUCIÓN LISS**  
**DISEÑO: MÓNICA ALAJO.**



**CONTROLES "A" Y "B"**  
**DISEÑO: MÓNICA ALAJO.**



**DISEÑO: MÓNICA ALAJO.**



*DISEÑO: MÓNICA ALAJO.*



*DISEÑO: MÓNICA ALAJO.*



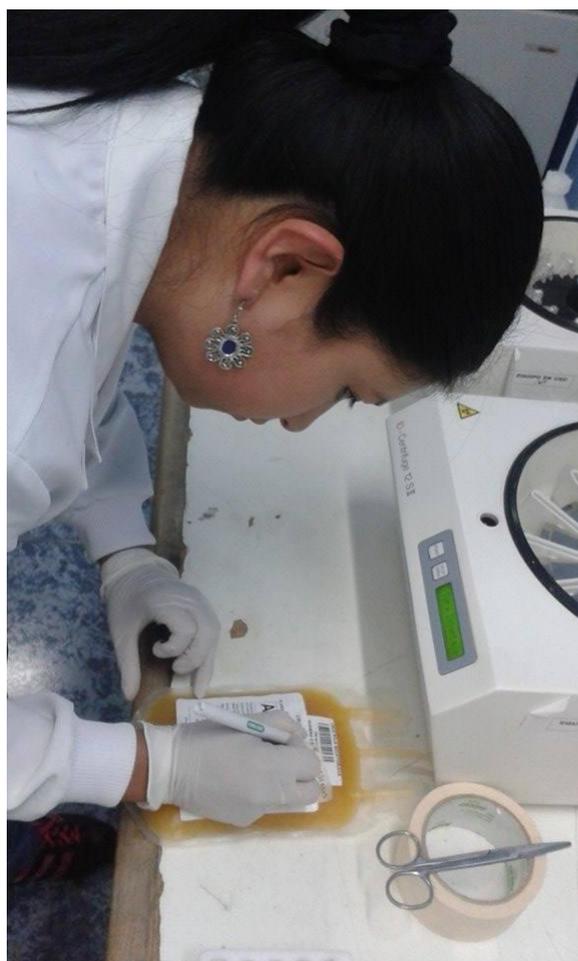
**REACTIVOS EMPLEADAS PARA PRUEBAS  
ANTIGLOBULÍNICAS  
DISEÑO: MÓNICA ALAJO.**



**CENTRIFUGA CON LAS MUESTRAS  
DISEÑO: MÓNICA ALAJO.**



**LAVADO DE LAS MUESTRAS CON SOLUCIÓN SALINA**  
**DISEÑO: MÓNICA ALAJO.**



**DISEÑO: MÓNICA ALAJO.**



**DISEÑO: MÓNICA ALAJO.**



**PLASMA REFRIGERADO  
DISEÑO: MÓNICA ALAJO.**



**PLASMA REFRIGERADO CONGELADO**  
**DISEÑO: MÓNICA ALAJO.**



**CONCENTRADO DE GLÓBULOS ROJOS NORMALES**  
**DISEÑO: MÓNICA ALAJO.**