



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
LICENCIADA EN CIENCIAS DE LA SALUD EN LABORATORIO CLÍNICO
E HISTOPATOLÓGICO**

TEMA

**"VALORACIÓN DE LA CARGA ANTIGÉNICA H, MEDIANTE LA
TIPIFICACIÓN SANGUÍNEA DIRECTA, A MUESTRAS DE SANGRE DE
PACIENTES DE LA UNIDAD DE MEDICINA INTERNA DEL HOSPITAL
PROVINCIAL GENERAL DOCENTE DE RIOBAMBA QUE HAN SIDO
ADMINISTRADOS COMO ALTERNATIVA TRANSFUSIONAL
PAQUETES GLOBULARES, EN PREVENCIÓN DE REACCIONES
HEMOLÍTICAS, DURANTE EL PERIODO DICIEMBRE 2014 A MAYO
2015"**

AUTORA:

JESSICA VIVIANA PILCO VELA

TUTOR:

Lic. FERNANDO JARAMILLO G.

RIOBAMBA – ECUADOR



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
LICENCIADA EN CIENCIAS DE LA SALUD EN LABORATORIO CLÍNICO
E HISTOPATOLÓGICO

TEMA

"VALORACIÓN DE LA CARGA ANTIGÉNICA H, MEDIANTE LA TIPIFICACIÓN SANGUÍNEA DIRECTA, A MUESTRAS DE SANGRE DE PACIENTES DE LA UNIDAD DE MEDICINA INTERNA DEL HOSPITAL PROVINCIAL GENERAL DOCENTE DE RIOBAMBA QUE HAN SIDO ADMINISTRADOS COMO ALTERNATIVA TRANSFUSIONAL PAQUETES GLOBULARES, EN PREVENCIÓN DE REACCIONES HEMOLÍTICAS, DURANTE EL PERIODO DICIEMBRE 2014 A MAYO 2015".

CONFORMADO POR:

Master. Mery Alvear
MIEMBRO

Leda. Ximena Robalino
PRESIDENTE

Lcdo. Fernando Jaramillo
TUTOR

RIOBAMBA 2015

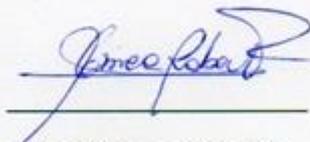
CERTIFICACIÓN DEL TRIBUNAL

En calidad de tribunal del trabajo de tesina “VALORACIÓN DE LA CARGA ANTIGÉNICA H, MEDIANTE LA TIPIFICACIÓN SANGUÍNEA DIRECTA, A MUESTRAS DE SANGRE DE PACIENTES DE LA UNIDAD DE MEDICINA INTERNA DEL HOSPITAL PROVINCIAL GENERAL DOCENTE DE RIOBAMBA QUE HAN SIDO ADMINISTRADOS COMO ALTERNATIVA TRANSFUSIONAL PAQUETES GLOBULARES, EN PREVENCIÓN DE REACCIONES HEMOLÍTICAS, DURANTE EL PERIODO DICIEMBRE 2014 A MAYO 2015”. Realizado por la Srta. Jessica Viviana Pilco Vela de CI: 0604811869, certificamos haber revisado las correcciones sugeridas en la pre defensa; indicándole que proceda al empastado, solicitud de fecha y hora para la Defensa pública.

Riobamba, 17 de Noviembre de 2015



Master. Mery Alvear
MIEMBRO



Lcda. Ximena Robalino
PRESIDENTE



Lcdo. Fernando Jaramillo
TUTOR

ACEPTACIÓN DEL TUTOR

Por medio de la presente, hago constar que he leído el protocolo del Proyecto de Tesina de Grado presentado por la Señorita Jessica Viviana Pilco Vela, para optar al título de Licenciada en Laboratorio Clínico e Histopatológico, y que acepto asesorar a la estudiante en calidad de tutor, durante la etapa del desarrollo del trabajo hasta su presentación y evaluación.

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'F. Jaramillo', is centered on a light-colored rectangular background. The signature is written in a cursive style with a large initial 'F' and a colon at the end.

.....

LIC. FERNANDO JARAMILLO

DERECHO DE AUTORÍA

PILCO VELA JESSICA VIVIANA es responsable de las ideas, doctrinas, pensamientos y resultados expuestos y plasmados en el presente trabajo de investigación y los derechos de autoría son de expresa y única pertenencia de la **UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO**.

A handwritten signature in blue ink, consisting of several loops and a final flourish, positioned above a horizontal dotted line.

JESSICA VIVIANA PILCO VELA
CI: 0604811869

AGRADECIMIENTO

Gracias en primer lugar a DIOS por haber guiado y bendecido mi vida en cada momento llenándome de sabiduría, confianza y certeza, en cada paso que di.

A mis Padres y Esposo, puesto que nunca me negaron su apoyo incondicional en el transcurso de mi carrera.

Al Lic. Fernando Jaramillo tutor de esta Tesis.

Y también agradezco a esta gran Universidad y a sus docentes. Que con su paciencia y don de enseñanza me impartieron grandes y valiosos conocimientos que van a ser de gran utilidad en mi vida profesional.

A ellos mi eterna gratitud.

DEDICATORIA

A DIOS y a la VIRGEN MARÍA, quienes me dieron la vida y la salud para la conclusión de esta tesis.

A mis PADRES Leonardo Pilco y Teresa Vela, quienes siempre estuvieron allí para apoyarme y darme ese ímpetu y valor de seguir adelante, y forjar en mí una persona de valores y responsabilidades que con el tiempo dieron sus frutos.

A mi ESPOSO e HIJO Edison y Gabriel Andachi, que son el motivo y la razón que me ha llevado a seguir superándome día a día, para alcanzar mis más apreciados ideales de superación.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación valoración de la carga antigénica H, mediante la Tipificación sanguínea directa, a muestras de sangre de pacientes de la Unidad de Medicina Interna del Hospital Provincial General Docente de Riobamba que han sido administrados como alternativa transfusional paquetes globulares, en prevención de reacciones hemolíticas, tiene como objetivo descartar complicaciones transfusionales al administrar paquetes globulares mediante la aplicación de la prueba Tipificación sanguínea directa como análisis primario en la muestra del paciente y garantizar la transfusión de sangre con el empleo de la prueba de Coombs, debido a que pueden en varias personas generar una producción o elevación del grado o concentración de anticuerpos por antecedentes de embarazos o de transfusiones que pondrían en riesgo el estado de salud cuando reciban sangre o paquetes globulares que contengan una diversidad de antígenos en concentraciones diferentes, para sustento del marco teórico se recurre a fuentes informáticas que respaldan la información de los grupos sanguíneos, técnicas empleadas para su análisis como de las características de los derivados de la sangre total que se obtienen y se ponen a disposición de la terapia transfusional. El marco metodológico aplica el método científico, deductivo e inductivo, con un tipo de investigación descriptiva, explicativa y de campo, la hipótesis planteada se responde afirmativamente a la importancia de la evaluación del antígeno H para prevenir complicaciones en las transfusiones de igual o diferente grupo sanguíneos entre el donante y receptor. Se recomienda en este trabajo emplear los ensayos de Coombs directo previo a la transfusión para descartar la sensibilización de los hematíes del receptor por exposiciones a transfusiones o antígenos extraños y después del proceso transfusional para descartar la aloinmunización a consecuencia de transfusiones de sangre que contengan antígenos diferentes al paciente.

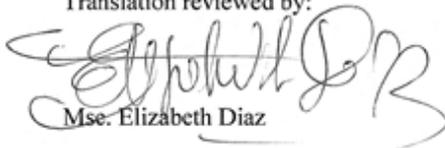


UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CENTRO DE IDIOMAS

ABSTRACT

This research assessment of H antigen load through direct blood typing, to blood samples in patients from the General Teaching Hospital in Riobamba, Internal Medicine Unit, that have been administered as an alternative packed red blood cells transfusion, to prevent haemolytic reactions, aims to manage avoid packed red blood cells transfusion complications by applying direct blood typing as a primary test analysis in the patient sample and ensure blood transfusion with the use of Coombs test, as they can in several people generate a production or elevated antibody concentration degree or by a history of transfusion or pregnancy that might put in risk the health when receiving blood or packed red blood cells that contains a variety of antigens in different concentrations. to support the theoretical framework we have informatics sources that support the blood group, we use techniques for the analysis as well as the characteristics of those derived from whole blood are obtained and made available to the transfusion therapy. The methodological framework applied scientific, deductive and inductive method, a kind of descriptive, explanatory and field research, the hypothesis is answered as the affirmatively importance of evaluation H antigen to prevent complications in transfusions from the same or different blood group between the donor and recipient. It is recommended in this work using direct Coombs tests before to transfusion to avoid erythrocytes sensitizing in the receiver for transfusion or exposure to foreign antigens and after the transfusion process to rule alloimmunization as a result of blood transfusions containing different antigens as the patient ones.

Translation reviewed by:


Msc. Elizabeth Diaz



ÍNDICE GENERAL

CERTIFICACIÓN DEL TRIBUNAL	III
ACEPTACIÓN DEL TUTOR	IV
DERECHO DE AUTORÍA	V
AGRADECIMIENTO	VI
DEDICATORIA	VII
RESUMEN.....	VIII
ABSTRACT.....	IX
ÍNDICE GENERAL	X
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I.....	3
1. PROBLEMATIZACIÓN.	3
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
CAPÍTULO II	7
2. MARCO TEÓRICO.....	7
2.1 POSICIONAMIENTO PERSONAL.....	7
2.2 FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	7
2.2.1 SISTEMA DE GRUPOS SANGUÍNEO ABO.	7
2.2.1.1 Antígenos del sistema ABO.....	9
2.2.1.2 Estructura Bioquímica de los Antígenos del sistema ABO	11
2.2.1.3 Importancia inmunológica	14
2.2.1.4 Subclasificación de los antígenos del sistema ABO.	15
2.2.1.5 Composición de los reactivos para evaluar antígenos del sistema ABO ..	17
2.2.1.6 Composición de los reactivos (ANTI- A1, ANTI – A2, ANTI-H Lectín).19	X

2.2.1.7 Lectinas.....	21
2.2.1.9 Discrepancias de la determinación antigénica ABO.....	28
2.2.2 SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO RH.....	30
2.2.2.1 Generalidades.....	30
2.2.2.2 Antígenos del sistema Rh.....	31
2.2.2.3 Importancia Inmunológica Rh.....	33
2.2.2.4 Variación del antígeno D.....	34
2.2.2.6 Métodos y técnicas para la determinación de los antígenos del sistema Rh.	38
2.2.2.7 Discrepancias de la determinación antigénica Rh.....	43
2.2.3. COMPATIBILIDAD EN EL USO DE SANGRE Y DERIVADOS.....	46
2.2.3.1. Medios de reacción:.....	46
2.2.3.2.1 Prueba cruzada mayor.....	52
2.2.3.2.2 Prueba cruzada menor.....	55
2.2.3.2.3 Pruebas de Coombs.....	58
2.2.4 COMPONENTES SANGUÍNEOS EMPLEADOS EN LA HEMOTERAPIA.....	59
2.2.4.1 Sangre total.....	59
2.2.4.2 Concentrados de glóbulos rojos convencionales.....	60
2.2.4.3 Concentrados de glóbulos rojos leucorreducidos.....	61
2.2.4.4 Plasma fresco congelado.....	62
2.2.4.5 Plasma refrigerado.....	63
2.2.4.6 Crioprecipitados.....	64
2.2.4.7 Concentrados de plaquetas.....	65
2.3 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS.....	67
2.3.1 SIGLAS Y ABREVIATURAS.....	68
2.4 HIPÓTESIS Y VARIABLES.....	70
2.4.1 HIPÓTESIS.....	70
2.4.2 VARIABLES.....	70
2.5 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....	70
 CAPÍTULO III.....	 71
 3. MARCO METODOLÓGICO.....	 71
3.1 MÉTODO CIENTÍFICO.....	71
3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA.....	73
3.2.1 POBLACIÓN.....	73
3.2.2 MUESTRA.....	73
3.3 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	74
3.3.1 TÉCNICAS.....	74
3.3.2 INSTRUMENTOS.....	74
3.3.3 TÉCNICAS PARA EL ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	74

3.4 ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	75
3.5 COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS.....	80
 CAPÍTULO IV.....	 81
4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	81
4.1 CONCLUSIONES	81
4.2 RECOMENDACIONES	81
 BIBLIOGRAFÍA	 82

ÍNDICE DE FIGURAS.

FIGURA 1 KARL LANDSTEINER.....	8
FIGURA 2 ANTÍGENOS DEL SISTEMA ABO.....	9
FIGURA 3 AZÚCARES ABO	10
FIGURA 4 ESTRUCTURA QUÍMICA ABO.....	12
FIGURA 5 REACTIVOS ABO	17
FIGURA 6 REACTIVOS PARA SUBGRUPOS.....	19
FIGURA 7 LECTINA H	21
FIGURA 8 ESQUEMA DE LA TIPIFICACIÓN ABO	25
FIGURA 9 GRUPO SANGUÍNEO A.....	26
FIGURA 10 INTENSIDAD DE REACCIÓN	27
FIGURA 11 SISTEMA RH	30
FIGURA 12 INCOMPATIBILIDAD RH	33
FIGURA 13 VARIANTE RH DU	34
FIGURA 14 RHD PARCIAL	34
FIGURA 15 ANTÍGENOS MAYORES Y MENORES RH	36
FIGURA 16 REACTIVOS PARA ANTÍGENOS RH.....	36
FIGURA 17 INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	41
FIGURA 18 REACCIÓN ANTÍGENO ANTICUERPO	46
FIGURA 19 SOLUCIÓN SALINA.....	47
FIGURA 20 ALBÚMINA BOVINA.....	48
FIGURA 21 SOLUCIÓN DE BAJA FUERZA IÓNICA.....	49
FIGURA 22 ENZIMA BROMELINA	50
FIGURA 23 PRUEBA CRUZADA MAYOR	52
FIGURA 24 SANGRE TOTAL	59
FIGURA 25 CONCENTRADOS GLOBULARES CONVENCIONALES	60
FIGURA 26 CONCENTRADOS GLOBULARES LEUCORREDUCIDOS	61

FIGURA 27 PLASMA FRESCO CONGELADO	62
FIGURA 28 PLASMA REFRIGERADO	63
FIGURA 29 CRIOPRECIPITADO	64
FIGURA 30 CONCENTRADO DE PLAQUETAS	65
FIGURA 31 REALIZACIÓN DE ENSAYOS.....	95
FIGURA 32 LECTURA DE LOS RESULTADOS.....	95
FIGURA 33 SELECCIÓN DE PLASMAS.....	95
FIGURA 34 SELECCIÓN DE PAQUETES GLOBULARES	95
FIGURA 35 PAQUETES GLOBULARES EN HEMOTECA	95
FIGURA 36 ENSAYOS.....	95
FIGURA 37 HEMATÍES SUSPENDIDOS	95
FIGURA 38 COLOCACIÓN DE MUESTRAS.....	95

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1 ANTÍGENOS ABO.....	8
TABLA 2 AZÚCARES ESPECÍFICOS ABO.....	14
TABLA 3 DEMOSTRACIÓN ABO.....	16
TABLA 4 CLONES ABO.....	18
TABLA 5 CAUSAS DE FALSOS POSITIVAS	44
TABLA 6 CAUSAS DE FALSOS NEGATIVOS.....	45
TABLA 7 PRUEBA DE COMPATIBILIDAD	54
TABLA 8 COMPATIBILIDAD MENOR	57
TABLA 9 VALORACIÓN ANTIGÉNICA ABO.....	87
TABLA 10 COMPATIBILIDAD	89
TABLA 11 VALORACIÓN ANTIGÉNICA POST TRANSFUSIÓN	92
TABLA 12 VALORACIÓN ANTIGÉNICA CON PRUEBA DE COOMBS.....	94

INTRODUCCIÓN

El presente trabajo investigativo se lo realiza en el Servicio de Medicina transfusional del Hospital Docente de Riobamba, Institución dedicada a la atención de la salud de la provincia y el país, esta institución cuenta con el Servicio de Transfusión donde se realizan las pruebas de Inmunohematología destinada a la clasificación de la sangre a transfundirse como a las pruebas de compatibilidad que garantizan las transfusiones y previenen las complicaciones.

En el estudio de los grupos sanguíneos, se han descrito más de 400 antígenos ubicados en la membrana de los glóbulos rojos, cada antígeno se define en la práctica por un anticuerpo específico, que reacciona con él, puede ser que algunos antígenos de los glóbulos rojos de elevada incidencia no hayan sido identificados debido, al pequeño sector de la población, que podrían producir anticuerpos contra las estructuras, la función de los glóbulos rojos, está relacionado a la acción del sistema inmune dentro de la cual permite el reconocimiento o distinción de ser las propias y extrañas.

Uno de los primeros sistemas de grupos sanguíneos identificados fue, el sistema ABO, al cual se le atribuye la correlación de antígenos A, B y O, los anticuerpos relacionados a este sistema son identificados como necesidad desde el punto de vista clínico, para prevenir reacciones, sensibilizaciones, durante o posterior al parto y en las transfusiones de sangre.

Se emplea en este trabajo el estudio de las cargas antigénicas H, para lo cual se utiliza lectinas anti-H, el estudio de las lectinas fue iniciado por Stillmark en 1888 al describir el fenómeno de hemaglutinación con extractos de semillas de castor. La proteína responsable de la aglutinación de los eritrocitos la denominó Ricina, más tarde, Hellín descubrió que el extracto tóxico de semillas de *Abrus precatorius* también producía aglutinación de las células rojas, la proteína responsable se denominó Abrina.

La primera lectina que fue obtenida en forma cristalina fue la concanavalina A del frijol *Canavalia ensiformis* en 1919 por James B. Sumner.

Las lectinas se consideran armas valiosas en el campo de la Genética, la Biomedicina y la Inmunología. Su utilidad está basada en la propiedad que tienen de combinarse con varios tipos de glicoconjugados presentes en las superficies celulares y fluidos corporales.

Las lectinas constituyen un interesante grupo de proteínas de origen no inmune que comparten en común la propiedad de enlazarse de forma específica y reversible a carbohidratos, ya sean libres o que formen parte de estructuras más complejas.

Contienen al menos 2 sitios de unión, de ahí que puedan enlazarse en primer lugar a un azúcar específico y en forma secundaria a una molécula glicosilada.

Poseen interesantes propiedades que convierten a esta clase de proteínas en herramientas invaluableles en los laboratorios biológicos, por lo que se utilizan en numerosas investigaciones que incluyen: estudio de la estructura de las membranas, detección de transformaciones malignas, purificación de glicoconjugados, estudios citogenéticos, así como también en ensayos histoquímicos, enzimáticos y en el tipaje de grupos sanguíneos.

CAPÍTULO I

1. Problematización.

1.1 Planteamiento del problema.

La transfusión de sangre es un procedimiento de riesgo para la cual se procura correr los mínimos riesgos posibles, se toma en cuenta que la mejor transfusión es aquella que no se la hace.

La conclusión que conlleva a proceder a la administración de la sangre esta bajo el criterio y responsabilidad del médico que solicita este proceso como parte vital a mejorar la condición del paciente.

El profesional de laboratorio comparte, la responsabilidad de mejorar el estado de salud del paciente al cual, se le administrará sangre o sus derivados, esta responsabilidad parte desde la selección del donante de sangre, realización de pruebas llamadas serológicas, preparación u obtención de los hemoderivados aplicando normas y políticas de calidad, realización de ensayos de compatibilidad, resolviendo aquí las posibles discrepancias que se obtengan a consecuencia de los grupos sanguíneos comunes o no en nuestra población, así como también de las reacciones de grupos sanguíneos o resultados de pruebas inesperadas a la condición o patología del paciente que puede generar alteración de los resultados.

No siempre se suele contar con sangre de igual grupo sanguíneo al paciente o por las condiciones de su clínica los resultados permiten buscar alternativas a la transfusión, con el fin de prevenir la carga antigénica o de anticuerpos que conlleven a una sensibilización o reacción, hay que tomar en cuenta que un paciente transfundido puede ser en futuro un donante de sangre, a este no se le podría generar la producción de anticuerpos de los grupos sanguíneos, lo que ocasionaría pérdida de hemoderivados que se podrían obtener de él, también es importante pensar en la mujer que se transfunde sangre por su edad si es fértil en ella, se podría prevenir generar anticuerpos que crucen la placenta y ataquen al feto.

La determinación de grupos y subgrupos sanguíneos son necesarios para conocer el tipo de sangre al momento de someterse a una transfusión o a un trasplante, debido a que no todos los tipos de sangre son compatibles entre sí.

Los ensayos de Tipificación Sanguínea son procedimientos obligatorios aplicados previos a la transfusión de sangre o derivados, estos marcan una clave de vital importancia que aseguran o previenen efectos adversos a la transfusión de la sangre o sus derivados.

Las transfusiones de sangre, con uso de alternativas en la composición antigénica han limitado el procedimiento transfusional, debido a la falta de práctica transfusional, por ello la valoración de la compatibilidad es imprescindible para garantizar estos procedimientos, al igual las discrepancias en la determinación de grupos sanguíneos, han sido superadas cuando se analiza la condición patológica del paciente, en las que puede enmascarar la valoración antigénica, por lo tanto la determinación del antígeno H es fundamental en el procedimiento de la tipificación ya que se trata de una sustancia propia de los glóbulos rojos que se limitan en unos casos y en otros no a la terminación por la tipificación sanguínea y que ayuda a resolver inconvenientes de grupos o a evitar complicaciones transfusionales.

En Ecuador en la ciudad de Quito, en el Hemocentro de la Cruz Roja en el año 2014 se realizaron estudios en los que el 75% de la población es O-Rh+, el 14% es A+, el 7% B+, el 0,5% AB+ y el 3,5% todos los negativos. En los registros del Servicio de medicina transfusional del H.P.G.D.R. se evidencian una alta tasa porcentual de pacientes grupo O que han sido sometidos a transfusiones, así lo demuestra la población estudiada en este trabajo investigativo.

La incompatibilidad ABO se presenta aproximadamente en el 12% de los embarazos, aunque solo en el 3% hay evidencia de sensibilización fetal causando Anemia Hemolítica del Recién nacido y en menos de 1% hay hemólisis significativa. La mitad de los casos ocurre en el primer hijo y es más frecuente en niñas que en niños según el Dr. Cs. Olimpo Moreno Vázquez Profesor de Mérito y Consultante de Pediatría-Neonatología.

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.

¿Valorar la carga antigénica H, mediante la prueba de tipificación sanguínea directa, aporta a la prevención de reacciones transfusionales cuando se usan como alternativa transfusional paquetes globulares?

1.3 OBJETIVOS.

1.3.1 Objetivo General

Valorar la carga antigénica H, mediante la tipificación sanguínea directa, a muestras de sangre de pacientes de la unidad de medicina interna del Hospital Provincial General Docente de Riobamba que han sido administrados como alternativa transfusional paquetes globulares en prevención de reacciones hemolíticas, durante el período Diciembre 2014 a Mayo 2015.

1.3.2 Objetivos Específicos.

- Identificar la carga antigénica H, mediante la intensidad de reacción con el uso de anti lectina H, al emplearla en la tipificación sanguínea, utilizando muestras de sangre de diverso grupo sanguíneo.
- Determinar las cargas antigénicas que se involucran en las transfusiones sanguíneas de los paquetes globulares y de los receptores de sangre, al usarlas como alternativa transfusional para evitar la reacción transfusional in vitro, mediante la prueba de tipaje sanguíneo.
- Garantizar la compatibilidad sanguínea de los paquetes globulares empleados en las alternativas transfusionales, con la realización de las pruebas de Coombs en prevención de las reacciones hemolíticas transfusionales.

1.4 Justificación e Importancia.

La era fisiológica de la historia de la transfusión sanguínea comenzó con el descubrimiento de la circulación de la sangre, Los primeros experimentos fueron hechos con transfusiones homólogas entre animales y luego entre animales con humanos y entre humanos, muchos de los primeros intentos, terminaron en fracasos para el dador y el receptor de sangre.

Los grupos sanguíneos son una forma de clasificar la sangre, dependiendo de ciertas características que poseen, estas dependen de los antígenos que los glóbulos rojos presentan en su superficie y en el suero de la sangre.

Las dos clasificaciones más importantes para describir grupos sanguíneos en humanos son los antígenos y el factor RH. Las transfusiones de sangre entre grupos incompatibles pueden provocar una reacción inmunológica que puede desembocar en hemólisis, anemia, fallo renal, shock, o muerte.

La estructura química de los grupos ABO, han permitido alternar transfusiones por la composición antigénica, la base química de estos grupos sanguíneos es la sustancia H, quien tienen un comportamiento antigénico y puede ser causante de reacciones transfusionales aún cuando la transfusión sea de igual grupo sanguíneo entre la unidades de sangre con el receptor, cuando se oferta la alternativa transfusional mayor será la importancia de la carga antigénica H, este es el objetivo para prevenir las reacciones durante o posterior al acto de transfusión.

Este trabajo investigativo, pretende servir como una guía general para la toma de decisiones en el momento de indicar una transfusión, cuando se trata de la evaluación de la carga antigénica H de los grupos sanguíneos, profesionales médicos que prescriben o indican la transfusión de sangre no valoran la combinación antigénica presente en el paciente o en las unidades a transfundirse, este reto lo hace el profesional de salud, para garantizar resultados o transfusiones, el personal técnico de un servicio de transfusión se apoyara de un sin número de pruebas para garantizar la calidad del resultado, se propone para este trabajo considerar la aplicación de la prueba de tipificación sanguínea directa como un recurso de validación de la carga antigénica H de los grupos sanguíneos.

CAPÍTULO II

2. Marco Teórico.

2.1 Posicionamiento Personal.

Luego de indagar en la biblioteca y en fuentes bibliográficas no se han encontrado trabajos similares que conlleven a la valoración de la carga antigénica H en prevención de las reacciones transfusionales.

El pragmatismo es la doctrina filosófica según la cual la prueba de la verdad de una proposición es su utilidad práctica; el propósito del pensamiento es guiar la acción, y el efecto de una idea es más importante que su origen, considerando la relación teórica y práctica, como es el conocimiento de técnicas y procedimientos así como la correcta aplicación y manejo de ellas, para garantizar los objetivos finales de este proceso investigativo al descartar reacciones transfusionales luego de administrar paquetes globulares. (William James, filósofo estadounidense)

2.2 Fundamentación Teórica.

2.2.1 Sistema de grupos sanguíneo ABO.

El sistema ABO fue el primero de los sistemas sanguíneos descubiertos y continúa siendo el más importante con relación a la transfusión sanguínea, ya que la compatibilidad ABO es la base fundamental de la transfusión sobre la cual descansan todas las demás pruebas pretransfusionales.

El sistema ABO fue descubierto en 1900 por Karl Landsteiner, quien observó que los glóbulos rojos humanos podían ser clasificados en tres grupos (A, B, O), de acuerdo a la presencia de antígenos específicos en la membrana de los eritrocitos. Este descubrimiento lo hizo merecedor del Premio Nobel 20 años después. El cuarto grupo (AB) de menor frecuencia fue descubierto en 1902 por Von Decastello y Sturly.

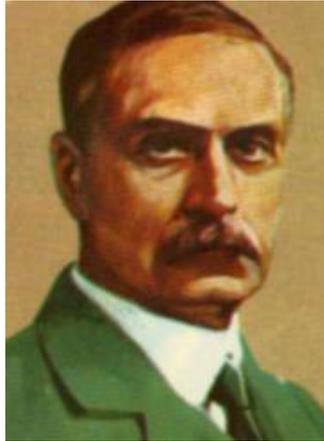


Figura 1 Karl Landsteiner

Fuente: <http://www.historiadelamedicina.org/landsteiner.html>

Las determinantes antigénicas de estos sistemas son moléculas de carbohidratos, cuya especificidad reside en los azúcares terminales de un oligosacárido. En la superficie del eritrocito y células endoteliales, la mayor parte de los antígenos se une al lípido de membrana.

	Grupo A	Grupo B	Grupo AB	Grupo O
Sangre roja célula				
Anticuerpos	 Anti-B	 Anti-A	Ningunos	 Anti-A y Anti-B
Antígenos	A antígeno	B antígeno	A y B antígeno	No antígenos

Tabla 1 Antígenos ABO.

Fuente: <http://geneticacom.blogspot.com/p/herencia-de-los-grupos-sanguineos.html>

Debido a su complejidad, el estudio del sistema ABO es causa de interés no sólo en la medicina transfusional, sino también en una gran variedad de campos científicos. Además de los cuatro grupos (A, B, AB, O), sabemos que existen más de una docena de subgrupos que presentan diferentes formas y grados de aglutinación. Además, los antígenos A y B se encuentran no sólo en los glóbulos rojos, sino también en la superficie de otros tipos de células y en las secreciones.

Por eso, este sistema se refiere a menudo como "sistema de grupo histosanguíneo". La presencia de antígenos A y B en otras células además de en los glóbulos rojos hace hincapié en la importancia del grupo sanguíneo ABO no sólo en las transfusiones de sangre, sino también en los trasplantes de otras células, de tejidos y de órganos.

Los antígenos A y B son sintetizados mediante una serie de reacciones enzimáticas catalizadas por unas enzimas llamadas glicosiltransferasas. De hecho, el último paso en la producción de estos antígenos requiere una glicosiltransferasa, que está codificada por los alelos funcionales A y B en el locus genético ABO. Otra característica interesante de los antígenos A y B es su presencia en otros animales además de en los seres humanos. Las glicosiltransferasas implicadas en la producción de antígenos A / B en humanos también exhiben los mismos efectos enzimáticos en otros animales. Por lo tanto, el sistema de grupo sanguíneo ABO también tiene importancia evolutiva y enzimática

La transfusión de sangre segura, concebida por Landsteiner y mejorada por muchos otros, principalmente inmunohematólogos, se ha convertido en una práctica médica de rutina. Desde nuestra clonación del gen ABO en 1990, se ha avanzado en el análisis estructural y funcional de los genes ABO y de las transferasas A / B a nivel molecular. (ESCOBAR, 2006)

2.2.1.1 Antígenos del sistema ABO.

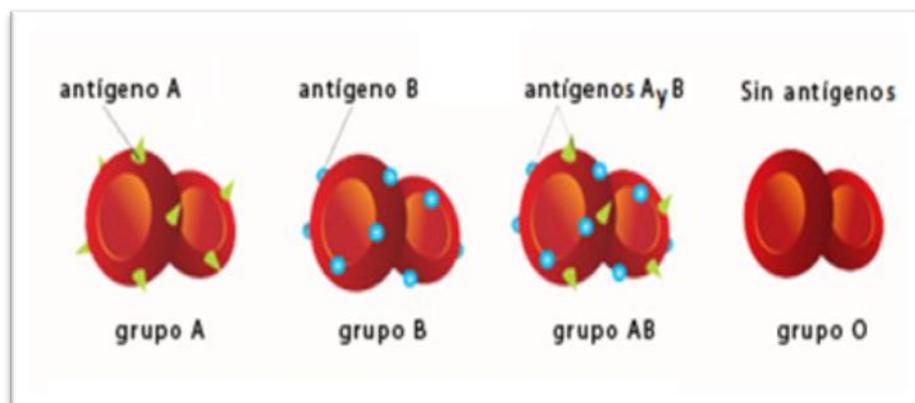


Figura 2 Antígenos del sistema ABO

Fuente: <https://cienciasomostodos.wordpress.com/2013/10/11/que-conoces-de-tu-sangre/>

Los antígenos del sistema ABO se detectan sobre los eritrocitos entre la quinta y sexta semana del embrión y no se desarrollan completamente hasta después del nacimiento. Durante el crecimiento, se van adicionando los azúcares terminales sobre la cadena de oligosacáridos en la membrana de los eritrocitos, dando origen a cada uno de los antígenos de forma específica. Entre los 2 y 4 años de edad, los antígenos A y B están completamente desarrollados y permanecen constantes durante toda la vida.

El sistema del grupo sanguíneo ABO consiste en tres antígenos. A, B, H, y cuatro fenotipos: A, B, AB, y O. A y B son antígenos autosómicos codominantes y se expresan en los hematíes del grupo A, B y AB respectivamente. En cambio, el fenotipo grupo O es un fenotipo autosómico recesivo, reflejando la ausencia de un gen funcional A o B. (ARBELÁEZ, 2009)

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 conferida por el azúcar, terminal; Ej. Azúcar N-acetilgalactosamina proporciona la especificidad antigénica A y el azúcar galactosa determina la actividad B. (SALOMÓN, 2006)

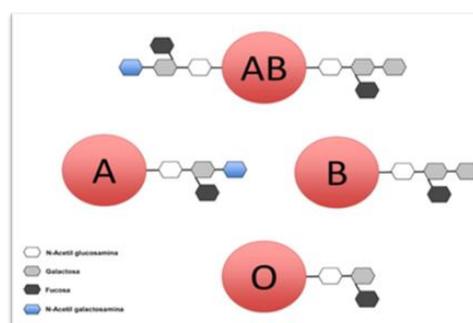


Figura 3 Azúcares ABO

Fuente: <http://trasplantealdia.pulsointeractivo.com/modules/capitulos/files/versiones/Ref.13.jpg>

Los antígenos A y B fueron originalmente identificados en los glóbulos rojos. Sin embargo, también se encontraron en otros tipos de células y secreciones. Por ejemplo, las células endoteliales que forman las paredes de los capilares expresan

estos antígenos, dependiendo del grupo sanguíneo. Por lo tanto, el sistema ABO de grupo sanguíneo es importante no sólo para transfusiones de sangre, sino también para el trasplante de células, tejidos y órganos. Además, sangre, pelos y líquido seminal son elementos importantes como pruebas en la escena de un crimen. (GÓMEZ, 2012)

Antígeno H

El antígeno H se encuentra sobre la membrana de los eritrocitos, excepto en las personas de fenotipo Oh (fenotipo Bombay). Como H es un precursor de A y B, las personas de los grupos sanguíneos A, B y AB tienen menos H que las personas O.

El gen H, ubicado en el cromosoma 19, codifica para la producción de una enzima transferasa (transferasa H), que une una molécula L-fucosa a la galactosa terminal (Gal) de un precursor común (sustancia precursora) unido a los lípidos o proteínas de membrana de eritrocito, dando origen al antígeno H, el cual es el paso anterior en la formación de los antígenos de los grupos sanguíneos ABO.

Los individuos con genotipo hh son incapaces de producir sustancia H, ya que el gen h es nulo. Sus hematíes carecen de antígenos del sistema ABO y se dice que pertenecen al grupo Bombay, por ser esta ciudad el primer sitio donde se descubrió. Este grupo tiene una frecuencia muy baja, ya que el gen H tiene una incidencia muy alta en la población. (ARBELÁEZ, 2009)

2.2.1.2 Estructura Bioquímica de los Antígenos del sistema ABO

Los antígenos del sistema ABO están compuestos por azúcares que protruyen de la membrana de la superficie de los eritrocitos, unidos a un componente denominado ceramida, el cual se encuentra en la membrana de los eritrocitos. Una serie de cuatro azúcares se une a la ceramida.

La estructura química de los Ags de este sistema se ha podido conocer por el estudio de estos en los fluidos orgánicos en forma hidrosoluble (glicoproteínas).

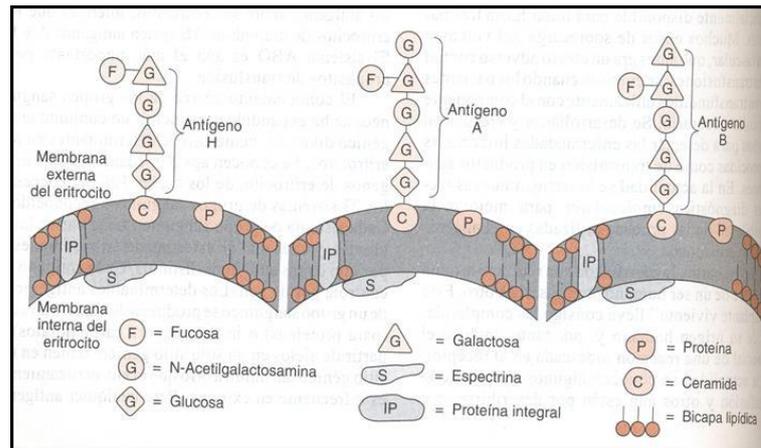


Figura 4 Estructura química ABO

Fuente: <http://myslide.es/documents/banco-de-sangre-produccion-de-componentes-sanguineos-qcb-rosalva-lomeli-valdivia-coordinadora-de-banco-de-sangre.html>

Químicamente los Ags ABH son macromoléculas compuestas de un núcleo peptídico o lipídico que es el 15% de la molécula más aproximadamente 500 cadenas cortas de oligosacáridos que constituyen el 85% restante, es decir están formadas por cadenas oligosacáridos unidas a glicoproteínas o glicolípidos.

Existe 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 en sustancia H). La sustancia H en presencia del gen A, B o AB es convertida en antígenos A, B o AB (estos genes producen enzimas terminales que añaden el azúcar a la sustancia H y producen antígenos correspondientes). (ARBELÁEZ, 2009)

Existen 2 tipos de precursor o sustancia precursora (SP) para los Ags ABH, el tipo I y el tipo II. Ambas presentan los mismos azúcares en lo que varían es en la unión de los azúcares terminales.

SP tipo I: Presenta una galactosa terminal unida a una acetilglucosamina subterminal por una unión 1,3

SP tipo II: Estos mismos azúcares se unen por un enlace 1,4.

En los GR los Ags ABH derivan de una cadena tipo II de SP, en tanto los Ags de las secreciones, del plasma y de las células glandulares y parenquimatosas derivan de una SP tipo I y tipo II.

El gen ABO, ubicado en el cromosoma 9, posee tres alelos que son el A, el B y el O, que varían de acuerdo a las sustituciones de nucleótidos, las cuales determinan las especificidades de las enzimas para las cuales codifican.

El gen H codifica para la producción de alfa-L-fucosiltransferasa que cataliza la adición de L-fucosa, el aminoazúcar dominante del antígeno H, a dos estructuras ligeramente diferentes conocidas como cadenas precursoras 1 y 2 (estas se denominan así por las uniones entre la N-acetilglucosamina y la galactosa terminal, en la 1 la unión es beta 1-3 y en la 2, es beta 1-4). Una vez que actúa el gen H, las enzimas codificadas por los genes A y B, pueden añadir los monosacáridos correspondientes (que dan especificidad) a las cadenas H preformadas.

El gen A mediante la enzima 1,3 N-acetilgalactosamina o acetilgalactosaminil transferasa adiciona a la galactosa terminal de la sustancia H una N-acetilgalactosamina formándose así el Ag A.

El gen B mediante la enzima 1,3 galactosa o galactosil transferasa agrega una galactosa a la galactosa terminal de sustancia H formándose así el Ag B.

El gen O es un gen amorfo, por lo tanto, incapaz de transformar la sustancia H. Por lo anterior, el gen H está presente en todos los sujetos A, B, AB u O, sin embargo, estos últimos por carecer de los genes A y B (sólo tienen el gen O), no pueden transformar la sustancia H, la cual se manifiesta en ellos en su totalidad como Ag H. (BERMARE, 2015)

Grupo sanguíneo	Azúcares terminales
A	Acetilgalactosamina + fucosa
B	Galactosa + fucosa
O	Fucosa
AB	Acetilgalactosamina + fucosa; Galactosa + fucosa

Tabla 2 Azúcares específicos ABO.

Fuente: Arbeláez-García CA. ABO blood group system, pág333

2.2.1.3 Importancia inmunológica

Los antígenos que hacen parte del sistema sanguíneo ABO juegan un papel importante no solo en las reacciones transfusionales, sino en la susceptibilidad a infecciones por parásitos como el Plasmodium falciparum, virus y bacterias. Además, algunas enfermedades, como la artritis reumatoide en la membrana de los eritrocitos.

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 EHRN, causada por el factor Rh+ del padre y del bebé y el Rh- de la madre cuya causa generalmente se asocia a diferencias antigénicas relacionadas al sistema Rh.

Durante las tres últimas décadas se ha mejorado la seguridad en las transfusiones sanguíneas debido a una disminución en los riesgos de contaminación infecciosa; sin embargo, la transfusión con sangre incompatible continúa siendo una causa importante de morbilidad y mortalidad.

Una transfusión con sangre ABO incompatible tiene grandes riesgos y aún pequeñas cantidades pueden ser fatales en ciertas condiciones. La destrucción de los eritrocitos ocurre a nivel intravascular y es inmediata, produciendo coagulación intravascular diseminada, falla renal y muerte. Las causas más

frecuentes no se asocian con errores técnicos, sino con errores administrativos, como fallas en la identificación de los pacientes o de las unidades a transfundir.

Los antígenos de grupo sanguíneo ABO son de gran importancia en medicina transfusional; son los más inmunogénicos de todos los antígenos de los grupos sanguíneos, convirtiendo la transfusión de sangre ABO incompatible en la causa más común de muerte por este procedimiento. A pesar de su importancia clínica, las funciones fisiológicas de los antígenos del grupo sanguíneo ABO siguen siendo un misterio. Se han realizado numerosas asociaciones entre algunos fenotipos ABO y una mayor susceptibilidad a determinadas enfermedades; por ejemplo, el grupo sanguíneo O se ha asociado con mayor riesgo de desarrollar úlcera gástrica, en tanto que el grupo sanguíneo A se ha asociado con mayor riesgo de cáncer gástrico. (ARBELÁEZ, 2009)

2.2.1.4 Subclasificación de los antígenos del sistema ABO.

Los subtipos del grupo sanguíneo ABO se denominan subgrupos y/o variantes. Los subgrupos de ABO se diferencian por las cantidades de antígenos A, B u O (H) sobre los eritrocitos. Los más frecuentes son los subgrupos de A y B, y de estos dos, son más comunes los subgrupos de A.

Los dos principales subgrupos de A son A1 y A2. Los subgrupos son clasificados por la cantidad de antígeno A, y esta cantidad disminuye en el orden A1, A2, A3, AX, A end, Am, Ael.

El fenotipo A puede dividirse en dos subgrupos. Aproximadamente el 80% de los individuos del grupo A tienen el fenotipo A1 y el 20% restante el fenotipo A2. Entre estos dos subgrupos existen diferencias cualitativas y cuantitativas. Los individuos A1 producen antígeno A, a partir de todas las cadenas H de tipo II (H1, H2, H3, H4). Los individuos A2 producen antígeno A solamente a partir de los precursores H1 y H2. Por lo tanto, los individuos A1 presentan más cantidad de antígeno A por eritrocito que los individuos A2. (ARBELÁEZ, 2009)

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.

En general, la distinción serológica entre A1 y A2 se basa en la aglutinación de los eritrocitos A1 y la no aglutinación de los eritrocitos A2 con anti-A1 lectina (extracto de semillas de Dolichos biflorus). Los eritrocitos de las personas A1 y A2 reaccionan fuertemente con el reactivo anti - A en las pruebas de aglutinación directa. (ARBELÁEZ, 2009)

Ag	ANTI-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	0	0	0	4+	anti-b	0	A1-H
Ap	0	0	0	4+	anti-b	0	A1-H
Ael	0	0	0	4+	anti-b	anti-a1 constante	H

Tabla 3 Demostración ABO.

FUENTE: (JARAMILLO,2012)

Los hematíes pertenecientes al subgrupo A3, presentan un modelo característico de aglutinación cuando reaccionan con el suero anti - A: algunos de los hematíes son aglutinados mientras que otros no lo son, es decir, ofrecen una imagen de doble población. El fenotipo A3 presenta una frecuencia de 1:1000.

Los subtipos del grupo sanguíneo B, son clasificados por la cantidad de antígeno B, y la cantidad de antígeno B disminuye en el orden B, B3, BX, Bm, Bel. Pero

no se han utilizado en los bancos de sangre ni aplicado a los problemas medico legales ya que son de muy baja frecuencia.

Subgrupos de AB

El grupo sanguíneo AB se clasifica en 9 subgrupos (AxB, A1Bx, AmB, A1 Bm, AelB, A1Bel, cisA2B3, cisA2B y cisA1B3) de acuerdo con la cantidad de antígeno A o B.

En particular cis AB es un fenotipo muy raro y tiene tres tipos sanguíneos, cisA2B3 (A2B3/O), cisA2B (A2B3/B) y cisA1B3 (A2B3/A1).

La detección de esta variante AB es muy importante, especialmente en transfusiones sanguíneas y en la solución de problemas de paternidad. (COPPO, 2004)

2.2.1.5 Composición de los reactivos para evaluar antígenos del sistema ABO



Figura 5 Reactivos ABO

Fuente: <http://www.grupobios.cl/productos/es>

A comienzo del siglo pasado, Landsteiner descubrió que los individuos podían ser agrupados en A, B, AB u O de acuerdo a la presencia (grupos A, B, o AB) o ausencia (grupo O) de antígenos fuertemente inmunogénicos en la superficie de los glóbulos rojos. También demostró la existencia de anticuerpos (aglutininas) dirigidos contra los antígenos A y B y que el suero de un individuo no contiene anticuerpos para el antígeno presente en sus propios glóbulos rojos pero sí contra los que no posee.

La determinación de grupos sanguíneos del sistema ABO se efectúa enfrentando los glóbulos rojos del paciente con anticuerpos monoclonales Anti-A, Anti-B o Anti-AB. La aglutinación o no de los hematíes ensayados frente a cada uno de los reactivos indica la presencia o ausencia de los correspondientes antígenos.

Los reactivos Anti-A, Anti-B o Anti-AB monoclonal son preparados a partir de anticuerpos monoclonales de clase IgM secretados por líneas celulares de hibridoma de ratón en una solución tamponada conteniendo 1 g/l de ázida sódica como conservante. Los clones involucrados y la coloración de cada producto se detallan en la siguiente tabla:

Nombre del producto	Línea(s) Celular(es)	Color
Anti-A	BIRMA -1	Azul
Anti-B	LB-2	Amarillo
Anti-AB	BIRMA-1/ES-4/ES-15	Incoloro

Tabla 4 Clones ABO

Fuente: <http://ecaths1.s3.amazonaws.com/catmicromed/Tecnicas%20inmunoserologicas.pdf>

Estos antisueros se caracterizan por su alta potencia, avidez y especificidad. Al no ser de origen humano, no existen riesgos de infección por HIV, HBV o HCV.

Todos los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C y se evita la contaminación durante su uso.

No usar los reactivos una vez caducados.

No congelar o exponer el reactivo a altas temperaturas.

La conservación del producto a temperatura distinta de la recomendada acelera la pérdida de reactividad de producto. Estos reactivos deben ser claros y transparentes.

La presencia de turbidez puede indicar contaminación microbiana. Descartar el contenido del vial, en caso de turbidez, rotura o pérdida de contenido. (COPPO)

2.2.1.6 Composición de los reactivos (ANTI- A1, ANTI – A2, ANTI-H Lectín).



Figura 6 Reactivos para subgrupos

Fuente:

<http://www.grupolabca.com.mx/laboratorios%20clinicos/Licon/banco%20de%20sangre/Tecnicas%20en%20tubo%20pruebas%20manuales/banco%20de%20sangre%20Tecnicas%20en%20tubo%20pruebas%20manuales-reactivos.htm>

El sistema de grupo sanguíneo ABO muestra 4 tipos de antígenos: A1, A2, B y H (el antígeno perteneciente al grupo O).

Algunos extractos de origen vegetal o animal muestran una actividad de aglutinación específica. Son llamados normalmente lectinas, se tratan de moléculas vegetales capaces de unirse con antígenos o fracciones antigénicas presentes en la membrana de hematíes humanos, en general a un azúcar Inmuno-dominante.

El anti-A1 vegetal, es elaborado a partir de *Dolichos biflorus*, reconoce el N-acetil-D-galactosamina.

El anti-H vegetal es elaborado a partir de *Ulex europaeus*, y reconocer el azúcar L-fucosa (especificidad H).

Los dos principales subgrupos del grupo sanguíneo A son A1 y A2. Serológicamente, los eritrocitos A2 presentan una expresión más débil del antígeno A que los eritrocitos A1.

El 1–2% de las personas con el grupo A2 y hasta un 26% de las personas con el grupo A2B tienen anti-A1 en su suero. (ROSARIO, 2000)

Reactivo Anti-A1 Lectín

Es un reactivo estabilizado preparado a partir de un extracto purificado de semillas de *Dolichos biflorus* y contiene aglutininas contra los subgrupos A1 y A1B. En algunos casos puede aglutinar ligeramente los eritrocitos de los grupos A2, A2B y otros subgrupos.

La determinación de subgrupos A no debe realizarse durante el primer año de vida, ya que el antígeno A no se encuentra plenamente desarrollado.

Reactivo Anti-H Lectín

Es un extracto de semillas de la leguminosa *Ulex europaeus*, Contiene una fitohemaglutinina, que es prácticamente específico para el antígeno H en las células rojas de la sangre humanas.

Anti- H lectina es capaz de aglutinar específicamente a los hematíes que contienen sustancia H y también es eficaz para detectar esta sustancia en la saliva.

El antígeno H está presente en todos los eritrocitos humanos, salvo en los del fenotipo Oh (grupo sanguíneo Bombay). La sustancia H es la precursora de los antígenos A y B. Según los distintos Grupos Sanguíneos y su intensidad de reacción con el anti-H, se establece el siguiente orden: O > Ax > A3 > A2 > B > A2B > A1 > A1B

Para la clasificación de subgrupos A, el reactivo anti-H debe utilizarse en combinación con el anti -A, anti-AB y la lectina anti-A1.

Se ha añadido ázida sódica (<0.1%) a estos reactivos a modo de conservante.

Precauciones:

- No ingerir bajo ningún concepto.
- Estos reactivos contienen un 0,1% de ázida sódica y están clasificados como productos peligrosos.

- Si se desecha en un lavabo, límpiase con agua abundante para así prevenir un aumento de la ázida.
- Almacenar a una temperatura de 2 a 8° C. No congelar o exponer a temperaturas elevadas.
- No usar si está marcadamente turbido.
- No usar pasada la fecha de caducidad.

Se recomienda que se examine este reactivo durante cada día de su uso, para confirmar la reactividad correcta de los hematíes de antígenos positivos y negativos. Si los hematíes de antígeno positivos están aglutinados y los hematíes de antígeno negativos no lo están, se puede considerar que el reactivo es satisfactorio. (ROSARIO, 2000)

2.2.1.7 Lectinas.

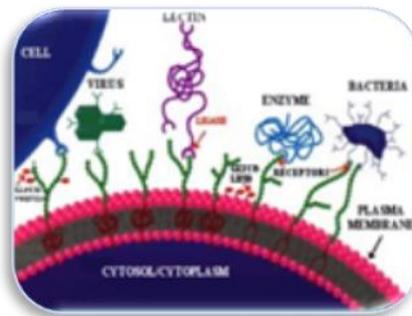


Figura 7 Lectina H

Fuente: <http://es.slideshare.net/wermen/lectins-16819879>

El nombre “lectina” procede de la palabra latina: legere, que significa “seleccionar”.

El estudio de las lectinas fue iniciado por Stillmark en 1888 al describir el fenómeno de hemaglutinación con extractos de semillas de castor (*Ricinus communis*). La proteína responsable de la aglutinación de los eritrocitos la denominó Ricina.

La primera lectina que fue obtenida en forma cristalina fue la concanavalina A del frijol *Canavalia ensiformis* en 1919 por James B. Sumner.

Existen diferentes proposiciones para definir las, pero la más aceptada es la siguiente: las lectinas son proteínas o glicoproteínas de origen no inmune, fijadoras de carbohidratos con capacidad para aglutinar células y precipitar glicoconjugados.

Las lectinas están compuestas por una cadena polipeptídica en la cual pueden estar unidos o no uno o más residuos de carbohidratos, normalmente de 2 a 15 monosacáridos residuales, que pueden estar constituidos principalmente por dos o más azúcares como: D- Manosa, D-galactosa, D-Glucosa, L-fucosa, N-acetil-D-galactosamina, ácido salicílico, glucosamina y galactosamina.

Las lectinas están presentes en casi todo lo vivo, pues se han encontrado en el reino vegetal, animal y en microorganismos. En las plantas se han detectado, principalmente en los cotiledones y endospermos de las semillas y constituyen del 2 al 10 % del total de las proteínas de estas. En el reino animal se han encontrado en invertebrados.

La gran importancia de las lectinas se debe fundamentalmente a sus propiedades biológicas, tales como aglutinación de eritrocitos y otras células como linfocitos, espermatozoides, plaquetas y bacterias, inducción de mitosis en linfocitos, efectos citotóxicos sobre linfocitos, aglutinación de virus y otras. (INMUNOCOR, 2000)

2.2.1.8 Métodos y técnicas para la determinación de los antígenos del sistema ABO.

Lavado y suspensión de hematíes ABO.

Eliminación BUFFY COAT (LEUCOCITOS AGREGADOS Y PLAQUETAS)

Requerimientos

- Tubos de ensayo (12X75)
- Pipeta de Pasteur
- Gradilla

- Centrifuga
- Dermográfico
- Guantes
- Mandil
- Gafas
- Solución salina (0,9%)

Muestras requeridas

- Sangre del donante (unidades a transfundir)
- Sangre del receptor o paciente (anexo a la solicitud de transfusión)

Procedimiento

1. Con una pipeta de Pasteur DISPENSAR 1ml de sangre total.
2. Complementar con solución salina hasta 1 cm del borde.
3. Centrifugar por 2 minutos a 3400 rpm para sedimentar las células
4. Eliminar el sobrenadante por aspiración, tratando de no perder hematíes.
5. Repetir este procedimiento por tres veces.

SUSPENSIÓN CELULAR AL 5%

- En un tubo de 12x75 dispensar 19 gotas de SSF y adicionar 1 gota de GR sedimentados.
- Homogenizar y mantener en refrigeración (4°C). (Fernando, 2012)

DETERMINACIÓN ABO EN PLACA

Fundamento

Se basa en la aglutinación que se produce en los glóbulos rojos cuando se ponen en contacto con anticuerpos aglutinantes específicos contra los antígenos de su superficie la presencia de aglutinación indicara que los glóbulos rojos poseen ese determinado antígeno en su superficie. (JARAMILLO, 2010)

Requerimientos

- Sueros comerciales: Anti-A, Anti-B, Anti-AB
- Portaobjetos
- Palillos
- Lámpara

Muestra requerida

- Sangre del donante (unidades a transfundir).
- Sangre del receptor o paciente.

Procedimiento

1. Rotular el porta objetos con la letra A y la letra B en cada extremo y otra con la letra AB.
2. Colocar una gota de suero Anti-A, una gota de Anti-B en cada sección identificada del portaobjeto y una gota del suero Anti-AB en el segundo porta objeto identificado.
3. Situar, junto a cada gota de antisuero, una gota de hematíes.
4. Mezclar los hematíes y el antisuero de cada sección utilizando un palillo diferente en cada uno de ellas formando un círculo de 2 a 2,5 cm de diámetro aproximadamente.
5. Hacer oscilar el portaobjetos hacia adelante y hacia atrás.
6. Observar la presencia o la ausencia de aglutinación.

7. La presencia o ausencia de aglutinación puede confirmarse con el examen microscópico de la mezcla. (Fernando, 2012)

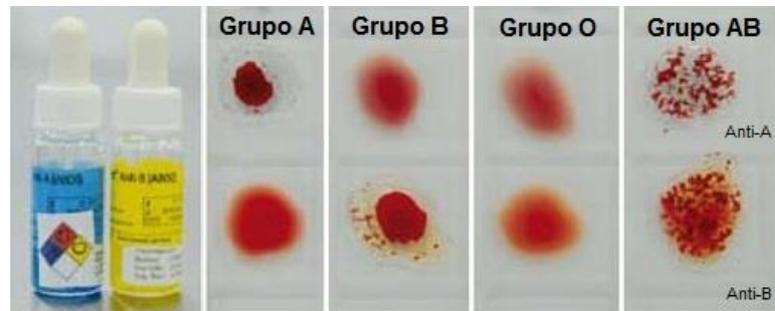


Figura 8 Esquema de la tipificación ABO

Fuente: <http://www.medigraphic.com/pdfs/medlab/myl-2009/myl097-8c.pdf>

Ventajas

- Técnica fácil, no se requiere de equipamiento costoso.
- Las pruebas en portaobjetos son utilizadas para la determinación urgente de grupos ABO.

Desventajas

- Es poco sensible y conduce a error.
- Solo se utiliza como evaluación previa a la determinación del grupo sanguíneo en tubo o microplaca.
- La reacción debe leerse antes de los 2 minutos para evitar que los reactivos se sequen y brinden resultados falsos positivos. (Fernando, 2012)

DETERMINACIÓN ABO EN TUBO

Requerimientos

- Sueros comerciales: Anti-A, Anti-B, Anti-AB
- GR al 5%
- Tubos 12x75 mm
- Solución Salina
- Pipetas Pasteur,

- Lámpara,
- Centrifuga.

Muestra requerida

- Sangre del donante (unidades a transfundir)
- Sangre del receptor o paciente.

TÉCNICA:

1. Colocar una gota de anti-A en un tubo limpio y rotulado.
2. Colocar una gota de anti-B en un segundo tubo limpio y rotulado.
3. Colocar una gota de anti-AB en un tercer tubo limpio y rotulado.
4. Colocar una gota de SSI en un cuarto tubo limpio y rotulado.
5. Añadir a cada tubo una gota de GR al 5 % en SSI.
6. Mezclar suavemente el contenido de los tubos y centrifugarlos durante 15-30 segundos a 3500 r.p.m.
7. Re suspender suavemente los sedimentos de los hematíes y examinar la aglutinación.
8. Anotar los resultados de la prueba

REPORTE DE RESULTADOS:

La aglutinación de hematíes con antisuero específico es interpretado como positivo e indica la presencia del antígeno correspondiente. Si no hay aglutinación produce un resultado negativo (0) indicando que el antígeno correspondiente no se encuentra.



Figura 9 Grupo sanguíneo A

Fuente: http://teresa122519997.blogspot.com/2014_09_01_archive.html

El grado de aglutinación o la intensidad de la hemólisis deben anotarse, tubo en mano, con cada lectura. Todo el personal debe emplear la misma metodología e interpretación de las lecturas. Una escala recomendada para la lectura de aglutinación es la siguiente.

4+ Un botón sólido de eritrocitos, contorno definido y fondo claro.

3+ Botón irregular con desprendimientos grandes y fondo transparente.

2+ Varios grumos de tamaño mediano, fondo claro.

1+ Aglutinado pequeños y fondo turbio.

NEGATIVO Ausencia de aglutinado y fondo turbio

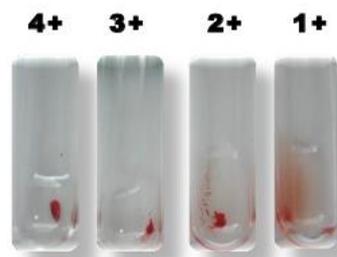


Figura 10 Intensidad de reacción

Fuente: <http://es.slideshare.net/stterapia/la-flebotomia-fraccionamiento-y-despacho-de-sangrederivados>

Ventajas.-

- Se pueden añadir aditivos para potenciar la reacción.
- Permite la manipulación
- Es visible la hemólisis

Desventajas.-

- La aglutinación es inestable
- Requiere manipulación y lectura cuidadosa
- Utiliza una cantidad importante de hematíes y suero (JARAMILLO, 2012)

2.2.1.9 Discrepancias de la determinación antigénica ABO.

Las discrepancias ABO implican que la prueba directa o globular no concuerda con la prueba indirecta o sérica, al hacer la clasificación sanguínea. La clasificación sanguínea ABO es la prueba más importante que se realiza en el banco de sangre. Un error en la clasificación del donante o del receptor puede llevar a la transfusión de sangre ABO incompatible. Los anticuerpos ABO son extremadamente eficientes en la activación del complemento produciendo hemólisis in vivo, que puede tener consecuencias clínicas tan importantes que causen la muerte del receptor. Usualmente las causas de las discrepancias son errores técnicos, por esto el primer paso a seguir ante una discrepancia, es repetir las pruebas. Una vez se verifique que no hubo error en el proceso, se trata de establecer su causa.

Para resolver discrepancias se puede recurrir al uso de reactivos adicionales, como el anticuerpo anti-AB para las pruebas globulares, y los eritrocitos A2 y O para las pruebas séricas. El reactivo anti-AB se usa para la detección de antígenos A y B débiles. Los eritrocitos A2 se usan para facilitar la identificación de anticuerpos anti-A1, en tanto que los eritrocitos O se utilizan para la búsqueda de otros anticuerpos diferentes de los anti-A y anti-B en donantes, los cuales pueden ser el resultado de una inmunización o transfusión previa (ARBELÁEZ, 2009)

PASOS A SEGUIR:

1. Chequear los resultados de control de calidad de los antisueros y los hematíes reactivos.
2. Rechequear los datos de la muestra y el pedido.
3. Rechequear el rotulo de los hematíes preparados.
4. Repetir el grupo globular y el sérico. Si los resultados son iguales al original
5. Incubar todos los tubos a temperatura ambiente. Puede potenciar reacciones débiles. Para los tubos del sérico se puede incubar a 4°C durante 15 minutos. Incluir autocontrol.

Con estos pasos se puede establecer las razones de la discrepancia. En caso de que no se aclare se puede realizar otras pruebas.

1. Primero obtener un nuevo espécimen. Esto identifica la discrepancia debida a muestras equivocadas, mal identificadas o contaminadas.
2. Lavar los hematíes del paciente 3-4 veces. (Fernando, 2012)

PRUEBAS GLOBULARES ADICIONALES

1. Repetir grupo directo con hematíes lavados al 5%. Se debe incluir reactivo Anti-AB, lectina A1 o lectina H.
2. Realizar un Coombs Directo.

PRUEBAS SÉRICAS ADICIONALES

1. El suero se debe enfrentar a hematíes A1, A2, B y O. Debe correrse un autocontrol.
2. Se puede incubar a 4°C durante 30 minutos. Incluir autocontrol, antes de concluir que el resultado es negativo. El autocontrol y los hematíes O previenen la mala interpretación de reacciones positivas debido a auto aloanticuerpos fríos reactivos a temperaturas bajas. (JARAMILLO, 2010)

ERRORES TÉCNICOS QUE PRODUCEN DISCREPANCIAS ABO

1. Falla para adicionar los reactivos y las muestras de los pacientes
2. Mezcla inadecuada de las muestras y los reactivos
3. Suspensión de los eritrocitos con muy alta o baja concentración
4. Sub o sobre centrifugación de las pruebas
5. Error en la identificación de las muestras
6. Interpretación incorrecta o registro de los resultados.
7. Falla para seguir las instrucciones del fabricante

POSIBLES CAUSAS DE FALSO POSITIVO

1. Adición del antisuero equivocado al tubo de prueba.

2. Exceso de centrifugación de la mezcla suero/células.
3. Material de vidrio sucio (lejía, detergente, silicona).
4. Técnica de lectura inadecuada, agitación muy débil.

POSIBLE CAUSA DE FALSO NEGATIVO

1. Omisión de las células del paciente o del donante.
2. Omisión del antisuero al tubo de prueba.
3. Baja centrifugación de la mezcla suero/células.
4. Agitación vigorosa al momento de hacer la lectura.
5. Deficiente lavado de las células (JARAMILLO, 2012)

2.2.2 Sistema de grupo sanguíneo Rh.

2.2.2.1 Generalidades.

El sistema RH es enormemente complejo, y su existencia se descubrió casi 40 años más tarde que el sistema ABO. Esto se debió, fundamentalmente, a las diferencias existentes entre los anticuerpos que intervienen en ambos sistemas

En 1939 LEVINE y STETSON, luego de que una mujer diera a luz un feto muerto, hallan en el suero de la misma un anticuerpo que aglutinaba a los glóbulos rojos del marido y a los del 80% de la población ABO compatible.

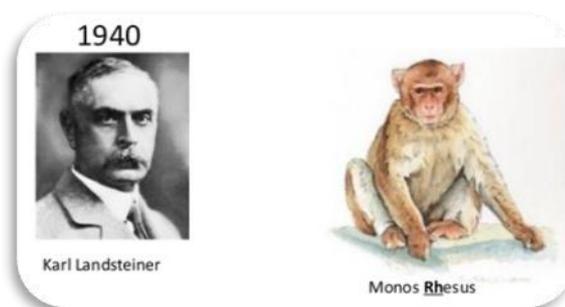


Figura 11 Sistema Rh

Fuente: <http://www.slideshare.net/PRINCESSANITA/sistema-rh>

En 1940 LANDSTEINER y WIENER inyectan hematíes de Macaco Rhesus a un conejo y observan que éste desarrolla un anticuerpo que aglutina no solo a los

eritrocitos del mono sino que también, a los eritrocitos, del 85% de la población caucásica de Nueva York. Quienes suponen que se trata del mismo anticuerpo descubierto el año anterior, por lo tanto, proponen como nombre "Sistema Rh" por analogía con el antisuero producido por el conejo luego de la sensibilización con el Rhesus.

El primer antígeno humano del sistema Rh que se descubrió es el D. los individuos que poseen este antígeno en la superficie de los hematíes se dice que son Rh positivo. Aquellos que no lo poseen, se dice que son Rh negativo. (FAUSTINA, 2012)

El sistema Rh, es de los que clínicamente tiene gran importancia, debido al poder inmunogénico, especialmente al antígeno D. Pero este sistema posee otros antígenos que eventualmente pueden sensibilizar a un paciente y provocar las mismas consecuencias clínicas, sobre todo reacciones hemolíticas transfusionales. Este sistema, posee gran polimorfismo, formado por aproximadamente 44 antígenos definidos por métodos serológicos, enumerados de Rh1 al Rh51; 7 de los cuales fueron declarados obsoletos por la ISBT. En nuestro país, es muy poco el estudio de la frecuencia de fenotipos del sistema Rh para personas, pacientes o donantes de sangre Rh negativo. A pesar de que el empleo terapéutico de los componentes de la sangre, es de suma importancia en diferentes circunstancias clínicas, muchos profesionales pasan por alto verificar el fenotipo de las unidades de glóbulos rojos empacados (GRE) Rh Negativo, tomando por un hecho que son de fenotipo ccdee. Sin embargo hay que considerar, que existen otros fenotipos que eventualmente pueden sensibilizar a un paciente, como el encontrado en este centro hospitalario a una paciente femenina, grupo sanguíneo A Rh negativo y fenotipo ccdee. (ARBELÁEZ, 2009)

2.2.2.2 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 antigénicos, su naturaleza química no está definida como un

compuesto ligado a lípidos sino más bien estructurado a los aminoácidos como elementos esenciales proteicos.

Se considera que son lipoproteínas presentes en la membrana eritrocitaria. También existen datos que indican su participación en el funcionamiento de esta membrana, ya que los individuos que no poseen antígenos Rh en los hematíes presentan anemia hemolítica por fragilidad de los eritrocitos.

Después de los antígenos A y B el antígeno D es el más importante, por que como mencionamos anteriormente produce severas reacciones hemolíticas; por lo tanto su identificación es imprescindible y su presencia define a los individuos como Rh positivos.

El locus RH está compuesto por dos genes estructurales y adyacentes denominados RHD y RHCE que codifican dos proteínas transmembranales del eritrocito, RhD y RhCcEe respectivamente. Estos genes están formados por 10 exones cada uno y presentan un alto grado de homología.

El sistema Rh presenta un gran interés clínico en obstetricia y medicina transfusional debido a la participación de sus aloanticuerpos en la destrucción inmune de los eritrocitos.

Está presente en el 85% de la población de raza blanca y en el 95% de la raza negra y casi en el 100% de algunas poblaciones; sólo 3 de cada 1000 chinos de Hong Kong y sólo 3 de cada 1000 japoneses son Rh negativos, aunque en realidad parece ser que serían D débiles.

La complejidad del sistema Rh radica en el gran polimorfismo de sus antígenos, ya que existen múltiples variantes de los antígenos correspondientes a los locus D, C y E. (RODRIGUEZ, 2014)

2.2.2.3 Importancia Inmunológica Rh.

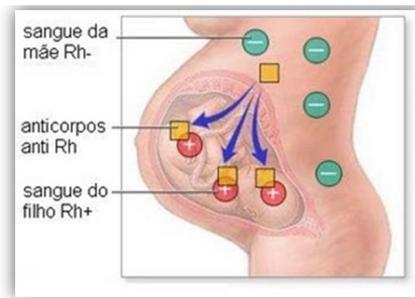


Figura 12 Incompatibilidad Rh

Fuente: <http://www.taotv.org/2012/01/29/comunicado-sobre-la-incompatibilidad-sanguinea/>

Radica en las transfusiones de sangre, en los trasplantes y en los embarazos. Los individuos Rh- desarrollan anticuerpos (aglutininas, de la clase IgG) contra el Rh+ ante la exposición a este. En las donaciones de sangre, la sangre se aglutinaría en caso de que el donante fuese positivo y el receptor negativo. En los trasplantes de forma parecida habría rechazo.

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 EHRN, causada por el factor Rh+ del padre y del bebé y el Rh- de la madre cuya causa generalmente 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 EHRN a través de su estudio, adoptándose medidas preventivas y curativas. (GÖMEZ, 2012)

2.2.2.4 Variación del antígeno D

Es una variante débil del antígeno D, poco frecuente entre los individuos caucásicos, pero común entre los individuos de raza negra (22%). (COPPO, 2004)

Antígeno Du.

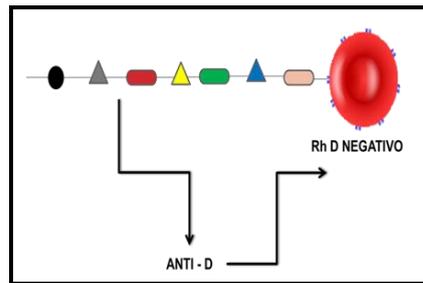


Figura 13 Variante Rh Du

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

Presenta una estructura que consta como mínimo de 4 partes; si faltan una o más partes del antígeno, el resto puede tener una expresión débil. Por esta razón los individuos que pertenecen a dicha variante, deben ser transfundidos con sangre Rh (-). Los centros de transfusión sanguínea efectúan la prueba para el factor Du a todos sus donantes Rh (-), ya que la sangre de un Du inyectada a un receptor Rh (-) puede producir en este último una sensibilización del mismo al antígeno D.

Antígeno D parcial

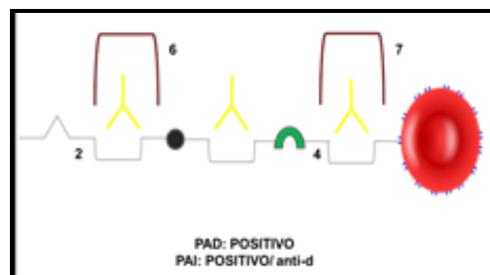


Figura 14 RhD Parcial

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

El antígeno D está constituido al menos por nueve subunidades o epítopes genéticamente determinados. Si alguna de esas subunidades no se sintetiza, la molécula del antígeno D se expresa débilmente en la membrana del hematíe.

Algunos individuos que han perdido parte del complejo antigénico D, pueden desarrollar aloanticuerpos anti-D que no reaccionan con sus propias células.

Estudios posteriores demostraron que los eritrocitos con este fenotipo se caracterizan por la ausencia de uno o más epítopes del mosaico que componen el antígeno "D", de ahí la capacidad de producir aloanticuerpos específicos hacia él o los epítopes faltantes, al ser inmunizados con glóbulos rojos Rh D positivo.

Antígeno Rh adquirido

La herencia del gen C en posición trans con relación al gen D (Ej.: dCe/DcE), tiene como resultado una expresión débil del antígeno D en los hematíes (Du); los individuos que presentan estas características no producen anti – D si reciben sangre Rh (+)

Antígeno Rh nulo

Las personas Rh nulo, si requieren transfusión solo pueden recibir sangre Rh nulo, de donde el uso clínico de congelación de sangre autóloga. Además como los antígenos Rh son parte de la membrana de los glóbulos rojos, estos pacientes tienen defecto de membrana y anemia hemolítica compensado con estomatocitos en sangre periférica

Antígenos "C" y "c"

El antígeno "C" tiene una frecuencia aproximada del 68% en la población general, frente a una frecuencia del 81% del antígeno "c", este último es el más inmunógeno luego del D y como tal es causante de riesgo en la E.H.F.N. (COPPO, 2004)

Antígenos "E" y "e"

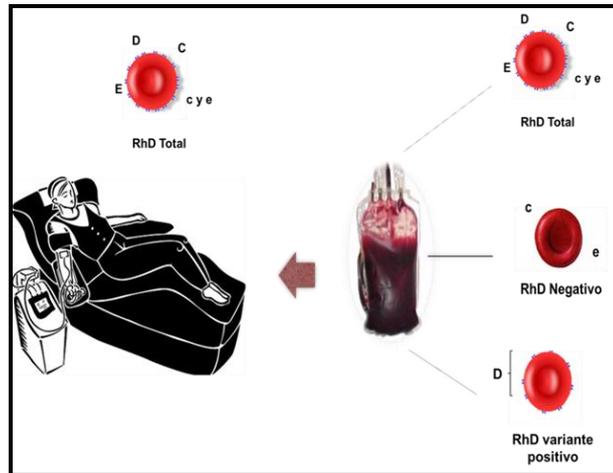


Figura 15 Antígenos mayores y menores Rh

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

El antígeno "E" tiene una frecuencia del 27% en la población general mientras que el "e" ronda cercano al 98%. (COPPO, 2004)

2.2.2.5 Composición de los reactivos para evaluar antígenos del sistema Rh.



Figura 16 Reactivos para antígenos Rh

Fuente: <http://practicashema.blogspot.com/2015/05/determinacion-del-fenotipo-y-genotipo.html>

Reactivo ANTI – D (Rho)

El reactivo anti-D es una mezcla de anticuerpos de clase IgG e IgM monoclonales humanos bajo en proteínas.

En un Tampón fosfatos que incluye: Cloruro sódico 0,9 g %, Albúmina bovina 3 g %, ázida sódica <0,1% y potenciadores macromoleculares.

El reactivo aglutina directamente hematíes Rh D positivo, incluyendo la mayoría de sus variantes (excepto DVI) y una alta proporción de fenotipos D débiles (Du).

Precauciones: Los diferentes componentes de origen humano han sido ensayados y hallados exentos de virus HIV 1+2 y anti HCV, así como HBsAg. Aun así se aconseja manipular los reactivos y las muestras con las precauciones debidas.

- Usar guantes y ropa protectora.
- Los reactivos contienen ázida sódica. Evitar el contacto con la piel y mucosas.

Reactivo ANTI- Cc, ANTI- Ee

Los reactivos hemoclasificadores monoclonales anti-C, c, E, y ambas e (IgM) son preparados a partir de sobrenadantes de cultivo de líneas de células estables de hibridoma, tal como describieron por primera vez Köhler y Milstein (Nature 1975). Estos reactivos monoclonales contienen anticuerpos IgM humanos y han sido especialmente seleccionados y desarrollados para proveer una alternativa fiable a los reactivos policlonales. El principio del análisis es la técnica de aglutinación, que se basa en la reacción de los antígenos/anticuerpos. Estos reactivos pueden usarse en tubo de centrifuga, en microplaca o en porta. Se recomienda encarecidamente la inclusión de controles positivos y negativos en cada serie de hemoclasificación.

Precauciones: Se recomienda guardar los reactivos a 2–8°C. No usar los viales que pierden líquido o dañados. No usar los reactivos (abiertos o cerrados) después de la fecha de vencimiento, que aparece en la etiqueta del vial. (LINEAR, 2000)

Reactivo ANTI – CDE

Este reactivo es una mezcla de anticuerpos obtenidos de cultivos in vitro de hibridomas humanos, este reactivo está formulado con anticuerpos monoclonales tipo IgM/IgG en una solución buffer que contiene potenciadores químicos, la formulación incluye además ázida de sodio 0.1% (w/v) y material bovino. Este producto se provee esterilizado por filtración a 0.22 µm.

Precauciones: Este reactivo debe ser conservado entre 2-8°C. No debe utilizarse si se observa turbidez y no debe diluirse. No utilizar más allá de su fecha de vencimiento. El almacenamiento del producto a temperaturas incorrectas, por ejemplo, almacenar a altas temperaturas o congelaciones y descongelaciones repetidas, pueden llevar a la pérdida acelerada de la actividad del reactivo.

Este reactivo contiene 0,1% (w/v) de ázida sódica. La ázida sódica puede ser tóxica si se ingiere y puede reaccionar con las cañerías de plomo y cobre para formar sales altamente explosivas. (LINEAR, 2000)

2.2.2.6 Métodos y técnicas para la determinación de los antígenos del sistema Rh.

Determinación del antígeno D

Materiales

- Muestra de sangre procedente de los servicios de hospitalización en tubo tapa lila o en capilares (Heparina).
- Tubos de ensayos 12x75 mm
- Sueros comerciales Anti-D y Control RhD.
- Visor calefactado

Procedimiento.

1. Rotular tubos de ensayos con D y C (control)
2. Colocar 1 gota de antisuero Anti - D en el tubo (D) y 1 gota de Diaclon Rh control en el tubo (C).
3. Añadir a cada tubo 1 gota de células suspendidas en estudio (1 ml de solución salina más 2 gotas de sangre total o 1 gota de CGR, mezclar suavemente)
4. Centrifugar (programa P5) 15 segundos a 3000 RPM.
5. Observar reacciones de hemaglutinación mediante movimientos de agitación a los tubos de ensayo. (Fernando, 2012)

Reporte de resultados.

- La aglutinación de hematíes con antisueros específicos es interpretado como positivo (+) e indica la presencia del antígeno correspondiente, si no hay aglutinación (-) se interpreta como ensayo negativo o que el antígeno correspondiente no se encuentra.
- Aglutinación visible (+) de 1 hasta 4 cruces indica una reacción entre el antisuero y la muestra.
- La ausencia de aglutinación visible, indica que no se ha producido una reacción entre el antisuero y los eritrocitos.
- El ensayo es válido si el control negativo no presenta aglutinación.
- Si el ensayo es negativo los tubos D y control se debe incubar a 37 ° C por 15 minutos.
- Lavar los hematíes incubados por tres veces con solución salina isotónica.
- Añadir 1 o 2 gotas de suero de Coombs, mezclar suavemente y centrifugar 15 segundos a 3000 rpm.
- Re suspenda con cuidado en búsqueda de reacciones de aglutinación macroscópicas.
- Confirme las reacciones negativas añadiendo 1 gota de células control de Coombs.
- Agite suavemente y centrifugue 15 segundos a 3000 rpm. (se observa aglutinación + o ++)
- Una reacción negativa (aglutinación) indica la ausencia del antígeno D. (Fernando, 2012)

Notas del procedimiento.

- Los fenotipos D débil suelen dar ensayos de aglutinación negativa (-), se debe realizar un PAI a las muestras.
- Algunos estados patológicos como el mieloma múltiple o la enfermedad de aglutinina fría, dan lugar a la agregación espontánea de los eritrocitos.

Limitaciones.

- Contaminación de los materiales empleados pueden dar resultados falsos positivos o negativos.
- La suspensión de eritrocitos demasiado concentrado o demasiado diluido pueden dar resultados aberrantes. (Fernando, 2012)

Determinación en tubo de fenotipos Rh.

Materiales y Reactivos

- Tubos de 10 ó 12 x 75mm.
- Gradilla
- Pipetas de transferencia
- Baño María o incubador de calor seco a 35-37 °C
- Centrifuga serológica
- Solución salina fisiológica 0.9%
- Antiseros comerciales anti-C, anti-c, anti-E o anti-e.
- Reactivo control de Rh.

Muestra

Sangre anticoagulada con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), heparina, ácido citrato dextrosa (ACD), citrato fosfato dextrosa (CPD), citrato fosfato dextrosa adenina (CPDA-1) o glóbulos rojos lavados y suspendidos en SSF. Sangre coagulada puede utilizarse siempre y cuando del coágulo logre desprenderse suficientes hematíes, los cuales serán lavados y suspendidos en SSF.

Las muestras que no van a ser procesadas inmediatamente deben refrigerarse entre 2-8 °C para evitar la contaminación.

Procedimiento

1. Rotular TUBOS con la letra D, C, E. c. e y CDE

2. Colocar una gota de antisuero Anti-D, una gota de Anti-C, Anti-E, Anti-c, Anti-e y una gota de antisuero CDE en cada tubo limpio y rotulado respectivamente.
3. Mezclar suavemente el contenido de los tubos y centrifugar 15 segundos a 3500 rpm.
4. Resuspender suavemente el botón celular y examinar buscando aglutinación.
5. Anotar los resultados de la prueba.
6. Observar la presencia o la ausencia de aglutinación.
7. Si el test es negativo (ausencia de aglutinación), incube los tubos 15-30 minutos a 37°C.
8. Centrifugue los tubos a 3.400rpm por 15-30 segundos.
9. Resuspenda suavemente el botón de células para observar la presencia o ausencia de aglutinación macroscópica contra un fondo blanco bien iluminado.
10. Anote los resultados. (Fernando, 2012)

Interpretación

La aglutinación de los hematíes por el antisuero anti-C, anti-c, anti-E o anti-e, indica la presencia del antígeno correspondiente en la membrana del glóbulo rojo.



Figura 17 Interpretación de resultados

Fuente: <http://practicashema.blogspot.com/2015/05/determinacion-del-fenotipo-y-genotipo.html>

La no aglutinación de los hematíes por los antisueros mencionados indica la ausencia del antígeno correspondiente. (JARAMILLO, 2010)

DETERMINACIÓN EN LÁMINA DE FENOTIPOS Rh.

Este método sólo se recomienda para el rechequeo rápido de estos antígenos cuando ya ha sido determinada por la prueba en tubo.

MATERIALES Y REACTIVOS

- Lámina porta-objetos
- Lámina con temperatura de 37°C
- Palillos o aplicadores.
- Pipetas de transferencia.
- Antisueros comerciales anti-C, anti-c, anti-E o anti-e.
- Control de reactivo Rh
- Solución salina fisiológica 0.9% (SSF)

Muestra

Sangre anticoagulada con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), heparina, ácido citrato dextrosa (ACD), citrato fosfato dextrosa (CPD), citrato fosfato dextrosa adenina (CPDA-1) o glóbulos rojos lavados y suspendidos en SSF. Sangre coagulada puede utilizarse siempre y cuando del coágulo logre desprenderse suficientes hematíes, los cuales serán lavados y suspendidos en SSF.

Las muestras que no van a ser procesadas inmediatamente deben refrigerarse entre 2-8 °C para evitar la contaminación.

Procedimiento

1. Marque dos láminas portaobjetos así: una con el nombre del antisuero a usar (anti-C, anti-c, anti-E o anti-e) y otra como control y coloque sobre una lámpara de lectura y precaliéntela a 37°C.

2. Utilice pipetas de transferencia dispense una gota de sangre anti coagulada o de hematíes lavados y suspendidos al 35-45% en SSF, en cada una de las láminas.
3. Añada una gota del antisuero elegido y una gota de control de reactivo en sus respectivas láminas.
4. Mezcle individualmente con un palillo o aplicador cubriendo un área de 2-4 cm de diámetro.
5. Mueva suavemente hacia adelante y hacia atrás la lámpara y observe la presencia o ausencia de aglutinación.
6. Interprete los resultados en un tiempo no mayor a 2 minutos y anote los resultados.
7. A toda muestra con resultados negativos se les debe realizar el test para determinar la expresión débil del antígeno D (variante Du), se exceptúa la muestra de sangre proveniente de recién nacidos. (Fernando, 2012)

Interpretación.

La aglutinación de los hematíes por el antisuero anti-C, anti-c, anti-E o anti-e, indica la presencia del antígeno correspondiente en la membrana del glóbulo rojo.

La no aglutinación de los hematíes por los antisueros mencionados indica la ausencia del antígeno correspondiente. (DUEÑAS, 2003)

2.2.2.7 Discrepancias de la determinación antigénica Rh. (causas de falsos negativos y falsos positivos).

A diferencia del sistema ABO, en el sistema Rh no existe una prueba sérica o inversa que verifique los resultados obtenidos en la prueba directa, de tal suerte que el profesional debe prestar especial cuidado en su determinación para no incurrir en errores. (DUEÑAS, 2003)

Los cuadros muestran las causas de falsos positivos y falsos negativos.

CAUSAS DE RESULTADOS	MODO DE RESOLVER
Cantidades anormalmente altas de proteínas plasmáticas en el suero del individuo que causan agregación espontánea (Rouleaux) de las células.	Lavar 2-3 veces los hematíes con solución salina fisiológica y realizar la prueba bien sea en lámina o en tubo.
Individuos con anemia hemolítica autoinmune cuyos hematíes están fuertemente sensibilizados con IgG. Esta situación reduce las cargas de superficie de los hematíes favoreciendo su agregación espontánea.	<p>1.- Realizar Coombs directo a las células con el fin de comprobar la autosensibilización.</p> <p>2.- Hacer elución del anticuerpo y repetir la prueba con los glóbulos rojos libres del anticuerpo.</p>
Individuos con altos títulos de aglutininas frías que ocasionan agregación espontánea de los hematíes.	Lavar 2-3 veces los hematíes con solución salina fisiológica y realizar la prueba en lámina o en tubo.
Excesiva velocidad y tiempo de centrifugación cuando se realiza la prueba en tubo.	Calibrar las centrifugas serológicas definiendo periódicamente los tiempos de centrifugación óptimos, así como la velocidad de centrifugación.
Contaminación bacteriana o química de las muestras o reactivos.	<p>1.- Solicitar muestra recién obtenida del paciente y repetir la prueba.</p> <p>2.- Almacenar adecuadamente los reactivos controlando periódicamente los refrigeradores.</p> <p>3.- Verificar periódicamente que los reactivos no presenten turbidez.</p>

Tabla 5 Causas de falsos positivos

Fuente: DUEÑAS Víctor Hugo, El banco de Sangre, Cap. 2, segunda edición año 2003, pág. 76-77.

CAUSAS DE RESULTADOS FALSOS NEGATIVOS	MODO DE RESOLVER LA DIFICULTAD
Actividad de los reactivos disminuida.	1.- Chequear al inicio del día la actividad del anticuerpo con células apropiadas D+ y D-. 2.- Almacenar adecuadamente los reactivos. 3.- No utilizar reactivos cuya fecha de vencimiento haya expirado.
Temperatura inadecuada.	1.- Algunos reactivos Anti-D necesitan de calor para que la reacción antígeno-anticuerpo sea más evidente. Cuando realice la prueba en lámina, precaliéntelas a 40-50 °C para que la mezcla de células y reactivo alcance rápidamente la temperatura de 37°C. 2.- Es aconsejable leer el inserto del reactivo que el fabricante provee.
Mala interpretación de los resultados.	1.- La reacción de aglutinación de las células D+ con los antisueros Anti-D suele ocurrir en los primeros 30 segundos. Sin embargo no se debe reportar un resultado como negativo hasta que hayan transcurrido uno o dos minutos. 2.- Este tipo de lectura lo encontrará especificado en el inserto del reactivo.
No adición del suero Anti-D o adición de otro antisuero o reactivo.	Los antisueros Anti-D no son coloreados y aunque no es muy frecuente podría confundirse con otro reactivo de igual apariencia; por ejemplo la albúmina.

Tabla 6 Causas de falsos negativos

DUEÑAS Víctor Hugo, El banco de Sangre, Cap. 2, segunda edición año 2003, pág. 77

2.2.3. Compatibilidad en el uso de sangre y derivados.

2.2.3.1. Medios de reacción:

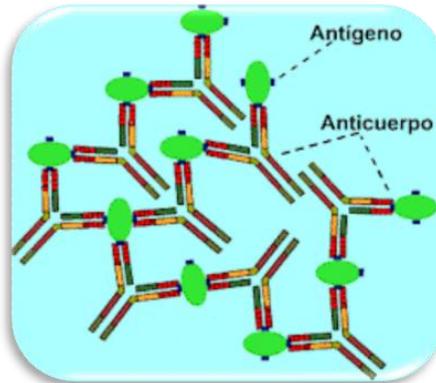


Figura 18 Reacción antígeno anticuerpo

Fuente: <http://vivesana.blogspot.com/2013/09/los-alimentos-saludables-mas-daninos.html>

Los Medios de Reacción facilitan el encuentro Ag - Ac in vitro.

- Mejoran la avidéz.
- Mejoran la afinidad.
- Mejoran la estabilidad de la reacción.
- Mejoran la interpretación de los resultados.

Los Factores que favorecen la Reacción Antígeno Anticuerpo son:

- Temperatura de conservación.
- Temperatura de incubación.
- Centrifugación.
- Efecto de dosis (cantidad de muestra y reactivo).
- Cargas eléctricas
- Lavado y suspensión de hematíes.
- Edad de las células (PAREDES, 2012)

Solución salina.-



Figura 19 Solución Salina

Fuente: <http://www.arsenalterapeutico.com/2015/04/11/estados-unidos-laboratorio-baxter-inicia-retiro-voluntario-de-solucion-intravenosa-de-cloruro-de-sodio/>

La solución salina al 0.9 % también denominada Suero Fisiológico, es la sustancia cristaloides estándar, es levemente hipertónica respecto al líquido extracelular y tiene un pH ácido. Contiene 9 gramos de NaCl o 154 mEq de Cl y 154 mEq de Na⁺ en 1 litro de H₂O, con una osmolaridad de 308 mOs m/L.

La normalización del déficit de la volemia es posible con la solución salina normal, aceptando la necesidad de grandes cantidades, debido a la libre difusión entre el espacio vascular e intersticial de esta solución. Estas soluciones cristaloides no producen una dilución excesiva de factores de coagulación, plaquetas y proteínas, pero en déficits severos se puede producir hipoalbuminemia, con el consecuente descenso de la presión coloidosmótica capilar (pc) y la posibilidad de inducir edema.

La solución salina empleada en los laboratorios de transfusión 0.9% estrictamente debe tener una concentración de 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 lámina 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. (KAUFMAN, 1992)

Albúmina bovina.-



Figura 20 Albúmina Bovina

Fuente: http://picanto.websitewelcome.com/~hoyfarm8/index.php/suministro-de-medicamentos/soluciones/by,product_price/results,61-120

Se emplean como medio proteico destinado a potenciar, determinados anticuerpos de grupo sanguíneo.

Las soluciones de albúmina bovina ejercen un efecto potenciador gracias a que aumentan la constante dieléctrica del medio en el que se hallan los hematíes y los anticuerpos; esto tiene como resultado la disminución del potencial Z y, en consecuencia, la repulsión electrostática existente entre los hematíes cuando se hallan en suspensión en un medio salino, concentraciones más empleadas: 30%, 22%, 6%, 3%.

La temperatura más adecuada para la conservación de las soluciones de albúmina es de 4°C. Además, para evitar la contaminación bacteriana se utiliza la ázida sódica. (PAREDES, 2012)

Solución de baja fuerza iónica liss.-



Figura 21 Solución de baja fuerza iónica

Fuente: <http://html.rincondelvago.com/tecnicas-de-separacion-de-mezclas.html>

Se ha observado que las reacciones antígeno anticuerpo mejoran al incorporar potenciadores que permiten reducir la fuerza y viscosidad del medio donde se da la reacción, esta fuerza iónica es uno de los factores más importantes que determina el nivel y cantidad de captación de anticuerpos por parte de los eritrocitos, el uso de estos medios de reacción de baja fuerza y viscosidad ha permitido disminuir el tiempo de incubación y potenciar las reacciones de los anticuerpos sin incrementar las reacciones inespecíficas lo que ha reducido la entrega de resultados, la realización de los exámenes y sobre todo la evidencia de anticuerpos que comprometen las reacciones transfusionales en las pruebas de los servicios de sangre.

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 resuspensión celular este reactivo presenta la ventaja de evitar el deterioro de los antígenos durante 28 días los glóbulos rojos resuspendidos en esta solución pueden ser utilizados en las técnicas de lámina, tubo, microplaca o gel. (JARAMILLO, 2010)

Enzimas Proteolíticas.



Figura 22 Enzima Bromelina

Fuente:

<http://ccdiagnosticos.com/productos/banco%20de%20sangre/Tecnicas%20en%20tubo%20pruebas%20manuales/banco%20de%20sangre%20Tecnicas%20en%20tubo%20pruebas%20manuales-reactivos.htm>

Descritas en 1946 por Pickles las enzimas proteolíticas son capaces de retirar de la superficie del hematíe fragmentos polipeptídicos de las glicoproteínas de membrana, tales como el ácido siálico (disminuyen “ γ ”) y por consiguiente disminuyen el Potencial Zeta permitiendo un mayor acercamiento de los hematíes y facilitando su aglutinación por los anticuerpos de tipo IgG.

De esa manera los hematíes pueden ser aglutinados por anticuerpos de clase IgG (no aglutinantes), como IgG anti-Rho (D), en medio salino.

Las enzimas más utilizadas son la Bromelina, Papaína y Ficina estas aumentan la sensibilidad de detección de algunos antígenos (Rh, Kidd), Destruyen antígenos de la membrana eritrocitaria (M, N, S, Fy) e Incrementan la detección de anticuerpos fríos.

Las pruebas para la investigación de anticuerpos mediante enzimas proteolíticas son muy sensibles para determinados anticuerpos pero tienden a dar resultados falsos positivos, por ello los anticuerpos reactivos solo con enzimas no suelen tener significación clínica.

Tripsina: Primera enzima descrita, da muchos falsos positivos. Las células tratadas con tripsina son especialmente sensibles a la hemólisis, sobre todo en pacientes con enfermedad de aglutininas frías.

Ficina: Se obtiene desecando el látex de la higuera. La ficina en polvo produce, en muchas personas erupciones cutáneas, y si accidentalmente penetra en un ojo, puede producir lesiones graves. Las células tratadas con ficina dan con frecuencia resultados positivos falsos, por lo que se recomienda trabajar con controles positivos y negativos. Debe usarse sólo para pretratar las células, ya que aún no se han descrito métodos de un solo paso para esta enzima.

Papaína: Obtenida de la papaya, se utiliza mucho porque reúne las propiedades de una adecuada sensibilidad junto con una buena selectividad. Como sucede con todas las Enzimas, si las células se tratan por exceso con papaína se produce falsas reacciones positivas, pero no tan frecuentemente como con la tripsina o la ficina. Puede usarse para pretratar células o, cuando se activa con la l-cisteína, para técnicas de una sola fase. Es especialmente útil para detectar anticuerpos del sistema Rh.

Bromelina: Se obtiene del tronco de la piña, se emplea en técnica de una sola fase. Las células tratadas con esta enzima detectan la mayoría de anticuerpos del sistema Rh sin mostrar sensibilidad a la cantidad de aglutina fría que normalmente hay en el suero. (PAREDES, 2012)

Otros factores que favorecen la reacción antígeno anticuerpo.

Entre otros factores q favorecen la reacción antígeno anticuerpo tenemos:

1. Adherencia eritrocitaria en fase sólida (Microplacas)
2. Aglutinación en columna, pruebas en gel y separación por afinidad
3. Quimioluminiscencia
4. Pruebas Inmunoabsorbentes ligadas a las enzimas (ELISA)
5. Inmunofluorescencia
6. Inmovilización de Antígenos Eritrocitarios con Anticuerpos Monoclonales Específicos (IAEAM)
7. Radioinmunoensayo. (PAREDES, 2012)

2.2.3.2 Fundamento de las pruebas cruzadas.

Las pruebas cruzadas están diseñadas para prevenir la reacción por transfusión y garantiza un máximo beneficio para el paciente, para cada transfusión se realizaran pruebas cruzadas mayores y menores.

2.2.3.2.1 Prueba cruzada mayor

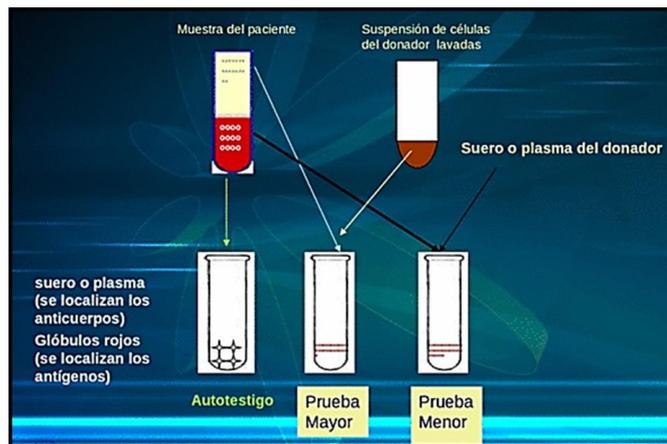


Figura 23 Prueba cruzada mayor

Fuente: <http://slideplayer.es/slide/123374/>

Principio

Consiste en enfrentar el suero del receptor con glóbulos rojos del donante. Esta se estudia en diferentes temperaturas en un medio de reacción adecuado (potenciador). Si en el suero del receptor hubiera un anticuerpo dirigido contra un antígeno sobre los glóbulos rojos del donante, se observara aglutinación y/o hemólisis. Ésta prueba se realiza cuanto se va a transfundir paquetes globulares. (Fernando, 2012)

Reactivos, suministros y equipos

- Albúmina bovina 22% o Liss
- Suero de Coombs
- Células control de Coombs (sensibilizadas con IgG).
- Tubos de vidrio 12 x 75 mm,
- Pipetas Pasteur,

- Centrífuga
- Baño María a 37°C,
- Gradilla para prueba cruzada
- Lámpara
- Lente de magnificación,
- Microscopio.

Técnica

Fase I: Centrifugación Salina Inmediata

1. Preparar una suspensión de GR del donante (paquete globular)
2. Marcar 1 tubo de 12 x 75 mm. con el rotulo PC
3. Colocar 2 gotas del suero problema.
4. Colocar una gota de los GR del donante suspendidos
5. Mezclar, centrifugar los tubos a 3 500 r.p.m. durante 15 segundos.
6. Observar la presencia de hemólisis y/o aglutinación, hacer la lectura por cruces y anotar los resultados.

Fase II: Térmica

7. Agregar 2 gotas de Albúmina bovina al 22% o Liss al tubo. Mezclar, centrifugar a 3500 r.p.m. durante 15 segundos, leer la hemólisis y/o aglutinación hacer la lectura por cruces y anotar los resultados
8. Incubar en baño maría a 37 °C durante 30 minutos (albumina) o 15 minutos (Liss).
9. Centrifugar, observar hemólisis y/o aglutinación y anotar los resultados.

Fase III: Antiglobulínica

10. Lavar 3 veces con solución salina fisiológica al 0.9%.
11. Se llena el tubo hasta cerca al borde con solución salina 0.9%. Se centrifuga a 3500 r.p.m., durante 1 minuto.

12. Se decanta todo. Se adiciona 1 a 2 gotas de solución salina, se resuspende el botón, se vuelve a llenar y se repite el paso anterior.
13. Agregar 2 gotas de Antiglobulina humana Mezclar, centrifugar (3500 rpm por 15 segundos) y leer
14. Los resultados negativos deben ser comprobados con la célula control de Coombs. (Fernando, 2012)

Interpretación

- **Reacción negativa:** la suspensión de hematíes es homogénea, ya que estos no han sido aglutinados por la antiglobulina humana. Lo interpretamos como que el suero del receptor no presenta anticuerpos contra los antígenos del donante y las muestras son compatibles.
- **Reacción positiva:** la antiglobulina humana ha aglutinado los hematíes del donante. Lo interpretamos como que el suero del receptor presenta anticuerpos contra determinados antígenos eritrocitarios del donante y las muestras son incompatibles. No podemos transfundir esta sangre donada a este receptor.

		DONADOR (ERITROCITOS)							
		A (+)	A (-)	B (+)	B (-)	AB (+)	AB (-)	O (+)	O (-)
RECEPTOR (SUERO)	A (-)	No	Si	No	No	No	No	No	Si
	A (+)	Si	Si	No	No	No	No	Si	Si
	B (-)	No	No	No	Si	No	No	No	Si
	B (+)	No	No	Si	Si	No	No	Si	Si
	O (-)	No	No	No	No	No	No	No	Si
	O (+)	No	No	No	No	No	No	Si	Si
	AB (-)	No	Si	No	Si	No	Si	No	Si
	AB (+)	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si

Tabla 7 Prueba de compatibilidad

<https://es.scribd.com/doc/16189622/Pruebas-Cruzadas-pruebas-de-compatibilidad-sanguinea-sistema-ABO-banco-de-sangre>

Comprobación de resultados.

Como es natural debemos comprobar que cuando la prueba de negativa el resultado sea verdadero, para lo que añadimos al tubo en el que no ha habido

aglutinación hematíes sensibilizados con IgG, y centrifugamos la mezcla. La antiglobulina humana debe reaccionar con los hematíes sensibilizados y aglutinarlos.

Si son verdaderos negativos la nueva mezcla aglutinara, si no lo hace es que la prueba no ha sido bien realizada, la antiglobulina humana no estaría activa, se olvidaría de añadirla y luego hay que repetirla desde el principio. (TÈCNICOS, 2002)

2.2.3.2.2 Prueba cruzada menor

Principio

Consiste en investigar en el suero de la unidad a transfundir los posibles anticuerpos frente a antígenos eritrocitarios del receptor.

Para ello, se observa la aglutinación eritrocitaria en la mezcla in vitro de suero del donante y hematíes del receptor.

Cuando no hay aglutinación la prueba es considerada negativa para esa unidad específica, hay compatibilidad entre receptor y donante y la unidad se puede administrar. (LLAUPITARCH J, 2010)

Técnica

Reactivos, suministros y equipos

- Albúmina bovina 22% o Liss
- Suero de Coombs
- Células control de Coombs (sensibilizadas con IgG).
- Tubos de vidrio 12 x 75 mm,
- Pipetas Pasteur,
- Centrífuga
- Baño María a 37°C,
- Gradilla para prueba cruzada

- Lámpara
- Lente de magnificación,
- Microscopio.

Técnica

Fase I: Centrifugación Salina Inmediata

1. Colocar 2 gotas del suero o plasma del donador.
2. Colocar una gota de eritrocitos del receptor
3. Mezclar, centrifugar los tubos a 3 500 r.p.m. durante 15 segundos.
4. Observar la presencia de hemólisis y/o aglutinación, hacer la lectura por cruces y anotar los resultados.

Fase II: Térmica

5. Agregar 2 gotas de Albúmina bovina al 22% o Liss al tubo. Mezclar, centrifugar a 3500 r.p.m. durante 15 segundos, leer la hemólisis y/o aglutinación hacer la lectura por cruces y anotar los resultados
6. Incubar en baño maría a 37 °C durante 30 minutos (albumina) o 15 minutos (Liss).
7. Centrifugar, observar hemólisis y/o aglutinación y anotar los resultados.

Fase III: Antiglobulínica

8. Lavar 3 veces con solución salina fisiológica al 0.9%.
9. Se llena el tubo hasta cerca al borde con solución salina 0.9%. Se centrifuga a 3500 r.p.m., durante 1 minuto.
10. Se decanta todo. Se adiciona 1 a 2 gotas de solución salina, se resuspende el botón, se vuelve a llenar y se repite el paso anterior.
11. Agregar 2 gotas de Antiglobulina humana Mezclar, centrifugar (3500 rpm por 15 segundos) y leer
12. Los resultados negativos deben ser comprobados con la célula control de Coombs. (Fernando, 2012)

Interpretación de resultado

Si en la prueba cruzada menor no aprecia aglutinación alguna existe compatibilidad de grupo y puede proceder a administrar el producto estudiado.

		DONADOR (SUERO)			
		A	B	O	AB
RECEPTOR (ERITROCITOS)	A	Si	No	No	Si
	B	No	Si	No	Si
	AB	No	No	No	Si
	O	Si	Si	Si	Si

Tabla 8 Compatibilidad menor

Fuente: <https://es.scribd.com/doc/16189622/Pruebas-Cruzadas-pruebas-de-compatibilidad-sanguinea-sistema-ABO-banco-de-sangre>

EL AUTOCONTROL-Es una prueba que se realiza simultáneamente con la prueba cruzada.

En un tubo se coloca dos gotas del suero del receptor + una gota de G.R. del mismo receptor, y se siguen los mismo pasos que la prueba mayor.

Interpretación:

Permite detectar una prueba de Coombs directa positiva, así como la presencia de Roleaux u otras anormalidades que pueden causar problemas en la interpretación de la Prueba cruzada mayor. (HERNANDEZ, 2014)

2.2.3.2.3 Pruebas de Coombs.

FUNDAMENTO

La prueba antiglobulínica o llamada también de coombs se usa para demostrar la sensibilización eritrocitaria “in vivo” mediada por anticuerpos o fracciones del complemento.

Esta prueba se aplica para:

- Diagnóstico de la Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido.
- Investigación da Anemia Hemolítica Autoinmune.
- Investigación de hematíes sensibilizados por medicamentos.
- Investigación de reacciones transfusionales.

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 la que los hematíes del paciente fueron expuestos a los antígenos específicos por transfusiones incompatibles o embarazos incompatibles.

TÉCNICA.

- Adicionar una gota de hematíes del receptor o paciente. Se puede correr por duplicado.
- Lavar 3 veces con SSI al 0.9%
- Se llena el tubo hasta cerca al borde con SSI al 0.9%. Se centrifuga a 3.500 r.p.m. durante un minuto.
- Se decanta todo. Se adiciona una a dos gotas de SSI, se resuspende el botón.
- Agregar dos gotas de antiglobulina humana poliespecífico. Mezclar
- Centrifugar a 3.500 r.p.m. durante 15 segundos
- Leer la graduación de las reacciones y anotar los resultados. (Fernando, 2012)

2.2.4 Componentes sanguíneos empleados en la hemoterapia

2.2.4.1 Sangre total.



Figura 24 Sangre Total

Fuente: <https://drleaz.wordpress.com/category/programa-de-fisiologia/2-fisiologia-de-la-sangre/page/2/>

OBTENCIÓN

Se conoce por sangre total aquella que no ha sido separada en sus diferentes componentes.

Una unidad tiene un volumen de 450 a 500 ml un hematocrito que oscila entre el 36% y el 50% cuya función principal es la de Transportar el oxígeno a los tejidos y aumentar de volumen perdido, y es recolectada en una solución con anticoagulante y conservante CPD (citrato-fosfato-dextrosa) o CPDA- 1 (citrato-fosfato-dextrosa-adenina) que permite la supervivencia de sus elementos.

CONSERVACIÓN

La sangre total puede ser almacenada refrigerada entre 21 y 35 días dependiendo de la solución conservante anticoagulante-utilizada.

Durante la conservación a 4°C las plaquetas y leucocitos dejan de ser funcionantes al cabo de pocas horas después de la extracción, y se produce una reducción gradual de la viabilidad de los hematíes. (HERNANDEZ, 2014)

UTILIDAD CLÍNICA

Su indicación fundamental, para muchos la única, es el tratamiento de pacientes con hemorragia activa que presenten una pérdida sostenida de más de 25% de su volumen sanguíneo total y que puedan llegar a sufrir choque hemorrágico.

Su uso está contraindicado en el tratamiento de pacientes con anemia crónica, quienes requieren soporte transfusional específico, o pacientes con deficiencia de IgA.

DESVENTAJAS

La sangre fresca total mantiene todas sus propiedades por un tiempo limitado.

El rápido deterioro de los factores lábiles de la coagulación (VIII y V), leucocitos y plaquetas hacen que la sangre fresca total sea un producto poco accesible, escaso, limitante y riesgoso.

En la actualidad su uso es muy restringido y ha sido reemplazada por el uso de sangre total reconstruida por lo cual no es fácil conseguirla en el banco de sangre. (HERNANDEZ, 2014)

2.2.4.2 Concentrados de glóbulos rojos convencionales.



Figura 25 Concentrados globulares convencionales

ente:<http://revista.consumer.es/web/es/20081101/actualidad/informe1/74225.php>

El concentrado de hematíes es el componente que se obtiene después de haber retirado 200 a 250 ml de plasma de una unidad de 450 ml de sangre total tras haber sido centrifugada.

Un concentrado de hematíes es la cantidad de glóbulos rojos que se obtiene a partir de una donación de sangre una vez separado el resto de componentes sanguíneos.

Los concentrados de hematíes en SAG-Manitol pueden conservarse hasta 42 días a temperaturas entre 1 a 6 grados centígrados, cuando no indique otra cosa la etiqueta del producto; en ese caso la caducidad será modificada de acuerdo con las nuevas especificaciones del producto y esta constará en la etiqueta. (MESA, 2015)

2.2.4.3 Concentrados de glóbulos rojos leucorreducidos.



Figura 26 Concentrados globulares leucorreducidos

Fuente: <http://www.ecom8.com/laprovidencia/index.php?page=productos>

OBTENCIÓN

Este componente se obtiene sometiendo la unidad de GR a un proceso de filtración con el fin de remover los leucocitos, su Volumen es de 280 a 350 ml y su vigencia es de 42 días.

UTILIDAD CLÍNICA

Su uso estaría indicado en pacientes que presenten reacciones de escalofrío-hipertermia por anticuerpos antileucocitarios; en prevención de la aloinmunización por anticuerpos leucoplaquetarios; y como alternativa a productos citomegalovirus negativos. Actualmente todos los hemoderivados se desleucocitan en los bancos de sangre antes del almacenamiento.

DESVENTAJAS

Sensibilización y reacción por anticuerpos anti eritrocitos, leucocitos, plaquetas y proteínas plasmáticas, contaminación por virus y otros gérmenes transmisibles, sobrecarga de hierro. (MESA, 2015)

2.2.4.4 Plasma fresco congelado.



Figura 27 Plasma fresco congelado

Fuente: <https://drleaz.wordpress.com/2011/04/06/fisiologa-de-la-sangre-clase-8-2/>

OBTENCIÓN

Es el componente líquido de la sangre total que se obtiene una vez retirados los elementos formes, congelado preferentemente dentro de las seis primeras horas de obtenido a menos 30 °C en el lapso de una hora; y posteriormente conservado a menos 18 °C, hasta por un año. Se obtiene por centrifugación o sedimentación con un volumen que oscila entre 200-250 ml. (CELULAR, 2010)

CONSERVACIÓN

Una unidad de plasma fresco congelado puede almacenarse hasta un año a 30°C, Una vez descongelado debe transfundirse apenas obtenga la temperatura ambiental; si está conservado en refrigeración puede usarse dentro de las 12 a 24 horas, pero considerar que hay disminución de los factores termolábiles de coagulación.

UTILIDAD CLÍNICA.- Aporta los factores de la coagulación y de la fibrinólisis, necesarios para la corrección de coagulopatías demostradas. El uso de PFC no está indicado para aumentar el volumen plasmático o la concentración de albúmina, por ejemplo, en pacientes con cirrosis hepática. Tampoco está indicado para corregir el TP en ausencia de hemorragia (usar vitamina K).

DESVENTAJA

Una vez descongelado deberá transfundirse tan pronto como sea posible y no deberá recongelarse para uso terapéutico. El plasma no administrado y el sobrante deben darse destino final.

Pueden existir reacciones alérgicas agudas especialmente con las infusiones rápidas, reacciones anafilácticas severas que ponen en peligro la vida ocurren ocasionalmente. (CONCENTRADOS GLOBULARES, 2010)

2.2.4.5 Plasma refrigerado



Figura 28 Plasma Refrigerado

Fuente: (<http://es.scribd.com/doc/104040602/El-Servicio-de-Medicina-Transfusional-Del-H-P-G-D-R>)

OBTENCIÓN

El Plasma Refrigerado se lo obtiene fraccionando una sangre total luego de las 8 horas de obtenido tiempo en el cual pierde los factores lábiles, manteniendo los factores estables de la coagulación, o luego de obtener el crioprecipitado a partir de un plasma fresco congelado su volumen es de 150-200 ml.

CONSERVACIÓN

El plasma refrigerado contiene albumina tiene una vigencia de 5 años y debe conservarse a una temperatura $< 20^{\circ}\text{C}$.

UTILIDAD CLÍNICA

Puede usarse en algunas deficiencias de factor IX o hemofilia B sin embargo en casos de sangrado mayor o en procedimientos quirúrgicos en sujetos deficientes de factor IX los requerimientos pueden no alcanzarse sin sobrecarga de volumen al paciente no debe usarse como fuente de proteína para aumentar el poder coloidosmótico del plasma o como expansor del volumen plasmático. (RUIZ, 2009)

2.2.4.6 Crioprecipitados



Figura 29 Crioprecipitado

Fuente: (<http://es.scribd.com/doc/104040602/El-Servicio-de-Medicina-Transfusional-Del-H-P-G-D-R>)

OBTENCIÓN.- Fracción proteica precipitable se prepara a partir de las unidades de plasma fresco congelado. Se trata de un sobrenadante blanquecino obtenido

cuando se calienta el plasma previamente congelado durante un periodo de 24 horas a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$, hasta una temperatura de entre $1\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $6\text{ }^{\circ}\text{C}$; este producto es de nuevo y rápidamente congelado a $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$, pudiendo almacenarse a esta temperatura durante más de un año.

Cada unidad de crioprecipitado contiene entre 80 y 150 unidades de factor VIII, entre 150 y 250 mg de fibrinógeno, factor de Von Willebrand, Factor XIII y fibronectina en un volumen de 10-15 ml.

CONSERVACIÓN

Almacenamiento a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ con una vigencia máxima de 1 año o 6 horas una vez descongelado.

UTILIDAD CLÍNICA.- Corrección de la deficiencia de los factores de la coagulación I, VIII, von Willebrand y XIII.

DESVENTAJA.- Se pueden producir reacciones alérgicas particularmente urticaria. (TORRES, 2001)

2.2.4.7 Concentrados de plaquetas



Figura 30 Concentrado de plaquetas

Fuente: (<http://www.saludbcs.gob.mx/cets.html>)

OBTENCIÓN.- Los concentrados plaquetarios pueden obtenerse de sangre total o mediante procedimientos de aféresis. Los obtenidos de sangre total se consiguen en las primeras seis horas de la obtención de la sangre y tienen un volumen

promedio de 50 a 70 ml, los concentrados obtenidos por aféresis se obtienen de un solo donador con la utilización de una maquina separadora de células.

CONSERVACIÓN

Se conservan a 22-24°C en agitación continua (para evitar su agregación), y duran un máximo de 3 a 5 días.

UTILIDAD CLÍNICA

Las plaquetas actúan en la hemostasia en la primera fase de la coagulación. Son fragmentos celulares circulantes que en caso de hemorragia se adhieren, agregan y retraen el coágulo para realizar la hemostasia

El concentrado de plaquetas además proporciona un incremento de la masa plaquetaria en pacientes con trombocitopenia, así como en aquellos con alteraciones funcionales de las mismas.

DESVENTAJA

Los concentrados plaquetarios deben ser infundidos lo más pronto posible, generalmente dentro de las 4 horas, por el riesgo de proliferación bacteriana, se presentan reacciones febriles no hemolíticas y alérgicas urticariales, especialmente en pacientes que reciben múltiples transfusiones.

Las plaquetas están contraindicadas en pacientes con Púrpura Trombocitopenia Trombótica porque hay riesgo potencial de serios episodios trombóticos. (DVORKIN, 2010)

2.3 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS.

1. **Aglutinación.**- Proceso por el cual los glóbulos rojos se unen y ligan entre sí.
2. **Alloinmunización.**- Respuesta inmune en la cual en presencia de antígenos extraños, el organismo produce anticuerpos.
3. **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.
4. **Anticuerpo natural.**- Anticuerpo que aparece en el torrente sanguíneo en ausencia de estimulación antigénica conocida.
5. **Antígeno.**- Cualquier sustancia reconocida por el organismo como extraña, que estimula una respuesta inmune.
6. **Hemoderivados.**- los productos obtenidos mediante procesos industriales para aplicación terapéutica, diagnóstica, preventiva o en investigación.
7. **Identificación de anticuerpos.**- proceso diseñado para conocer la especificidad de uno o varios anticuerpos.
8. **Plasma fresco.**- el que se obtiene de una unidad de sangre fresca de una donación única o mediante aféresis y por tanto, conserva sus cualidades procoagulantes.
9. **Plasma fresco congelado.**- aquel extraído de un donante o separado de una unidad de sangre total en un lapso que no exceda de 6 horas tras la extracción, sometido a congelación completa en un lapso no mayor de una hora y mantenido a una temperatura de -30°C o inferior. Cuando se empleen placas de butanodiol la separación del plasma de la sangre total podrá ser posterior a las 6 horas, pero sin exceder de 12 horas.
10. **Prueba de antiglobulina humana (prueba de Coombs).**- ensayo de aglutinación en el que se emplean anticuerpos contra la gammaglobulina humana, que permite demostrar la presencia o ausencia de anticuerpos adheridos a un antígeno de la membrana del eritrocito.
11. **Prueba de Coombs directo (o Coombs directo).**- análisis que permite identificar anticuerpos, complemento o ambos, adheridos a la membrana del

eritrocito o a otras células, mediante el uso de anticuerpos contra la gammaglobulina humana (suero de Coombs)

12. Reactivo de antiglobulina humana (Coombs).- Producto empleado para la detección de globulinas humanas adheridas a los eritrocitos y a otras células humanas. El poliespecífico, también detecta actividad de complemento humano (C3d y C3b).

13. Unidad.- volumen de sangre o componente sanguíneo obtenido para uso terapéutico, de un solo donante, en una sesión de extracción, en una bolsa o recipiente que contenga anticoagulante adecuado, suficiente, estéril y carente de pirógenos.

14. Hemolisina.- Anticuerpo que se combina con el complemento y destruye (hemoliza) los glóbulos rojos portadores del antígeno correspondiente.

15. Hemólisis.- Destrucción (lisis) de la membrana eritrocitaria que libera el contenido: hem y globina. Resulta de la reacción entre un anticuerpo hemolítico y el antígeno eritrocitario correspondiente, en presencia de complemento.

2.3.1 SIGLAS Y ABREVIATURAS

GalNac: N-Acetilgalactosamina

Fuc: Fucosa

Gal: Galactosa

Ags: Antígenos

SP: Sustancia precursora

Gr: Glóbulos Rojos

Rh: Rhesus

EHRN: Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido

HIV: Virus de la Inmunodeficiencia Humana

HBV: Virus de la Hepatitis B

SSF: Solución Salina Fisiológica

SSI: Solución Salina Isotónica

GRE: Glóbulos Rojos Empacados

EDTA: Etilendiaminotetracético

ACD: Acido Citrato Dextrosa

CPD: Citrato Fosfato Dextrosa

CPDA: Citrato Fosfato Dextrosa Adenina

PC: Presión Coloidosmótica

LISS: Solución de Baja Fuerza Iónica

PFC: Plasma Fresco Congelado

TP: Tiempo de Protrombina

2.4 HIPÓTESIS Y VARIABLES.

2.4.1 Hipótesis.

Valorar la carga antigénica H de los grupos sanguíneos ABO, permite el uso de las alternativas transfusionales con la administración de paquetes globulares sin provocar reacciones hemolíticas.

2.4.2 VARIABLES

VARIABLE INDEPENDIENTE.

Valoración de la carga antigénica H.

VARIABLE DEPENDIENTE.

Prevención de reacciones hemolíticas.

2.5 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	CONCEPTO	CATEGORÍA	INDICADORES	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS
Independiente: Valoración de la carga antigénica H.	Antígeno de base, para la estructuración y diferenciación de los antígenos ABO, en base a la estructura bioquímica, para generar diferenciación y variación antigénica	Prueba Inmunohematológica	Reacción de Hemaglutinación negativa o positiva	Técnica: la observación. Instrumento: Guía de observación
Dependiente: Prevención de reacciones hemolíticas	Manifestaciones desfavorables a causa de la administración de sangre o sus derivados.	Reacción Transfusional	Hemolíticas y no Hemolíticas	Técnica: la observación. Instrumento: Guía de Observación

CAPÍTULO III

3. Marco metodológico.

3.1 Método Científico.

El método científico es un proceso destinado a explicar fenómenos, establecer relaciones entre los hechos y enunciar leyes, principios que expliquen los fenómenos físicos del mundo y permitan obtener, con estos conocimientos, aplicaciones útiles al hombre

Relacionándole al tema de Tesina este método se ha utilizado puesto que se trata de valorar la carga antigénica H de los grupos sanguíneos y ayudar a la prevención de las reacciones hemolíticas transfusionales, estableciendo una relación con el laboratorio de medicina transfusional utilizando herramientas valiosas como la prueba de Tipificación Sanguínea Directa y de las pruebas Cruzadas las cuales ayudan a valorar la presencia de antígenos formados en la membrana de los eritrocitos.

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.

Aplicamos el método deductivo-inductivo porque con la ayuda de las pruebas de Tipificación Sanguínea Directa y pruebas Cruzadas estaremos garantizando la administración de paquetes globulares y de esta manera descartando posibles complicaciones en los pacientes al momento de transfundir.

MÉTODO ANALÍTICO

Es aquel que distingue las partes de un todo y procede a la revisión ordenada de cada uno de sus elementos por separado.

Aplicamos este método porque al analizar las muestras del donador como del paciente con las diferentes técnicas, métodos y procedimientos analíticos que realizaremos in vitro en el laboratorio estaremos garantizando la calidad de estos paquetes globulares y con ello descartaremos posibles complicaciones al momento de administrarlos al paciente.

LA APLICACIÓN DEL MÉTODO SINTÉTICO.

Nos permitió unificar todos los conceptos y los diversos elementos para formular una teoría.

Con la ayuda de este método unificamos los procedimientos y técnicas que utilizamos en la aplicación de la prueba Tipificación Sanguínea Directa y así obtendremos una teoría sustentable al momento de decidir si el paquete globular garantiza o no que no haya complicaciones cuando se lo administre.

TIPO DE INVESTIGACIÓN

La investigación se caracteriza por ser de tipo Descriptiva - Explicativa de campo no experimental.

DESCRIPTIVA: Porque una vez que se realiza el primer estudio profundo de la problemática a investigarse describimos con fundamentos de causa y consecuencia que al aplicar la prueba Tipificación Sanguínea Directa a los paquetes globulares descartaremos complicaciones en el paciente evitando así consecuencias por reacciones transfusionales.

EXPLICATIVA: Porque sobre la base del procedimiento, de la información, recopilación de textos, libros, folletos, llegamos a establecer las causas y consecuencias por las que se realizan las pruebas de compatibilidad, sabiendo así

que si transfundimos paquetes globulares podemos garantizar su administración al descartar inconvenientes de grupos en dicho paquete con la aplicación de la prueba Tipificación Sanguínea Directa y de esta manera evitar complicaciones transfusionales.

DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

Esta investigación fue de campo no experimental porque se la realiza con información y datos obtenidos en el laboratorio de Inmunohematología del Servicio de Medicina Transfusional del H.P.G.D.R. en personas que acorde a su cuadro clínico necesitaron una transfusión de este tipo.

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.

TIPO DE ESTUDIO

TRANSVERSAL: Esta investigación se la realizó a un periodo específico y determinado.

3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA.

3.2.1 Población.

La presente investigación está constituida por el total de 75 muestras de pacientes atendidos en el Servicio de Medicina Transfusional del H.P.G.D.R.

3.2.2 Muestra

Se trabajó con las 75 muestras, no se obtiene muestras por ser una población de estudio pequeño.

3.3 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.3.1 Técnicas

- Observación
- Análisis documental.
- Recopilación bibliográfica
- Técnicas para ensayos

3.3.2 Instrumentos

Guía de observación: Datos de los registros de resultados del Servicio de Medicina Transfusional del Hospital Provincial General Docente de Riobamba durante el periodo Diciembre - Mayo del 2015.

3.3.3 Técnicas para el análisis e interpretación de resultados

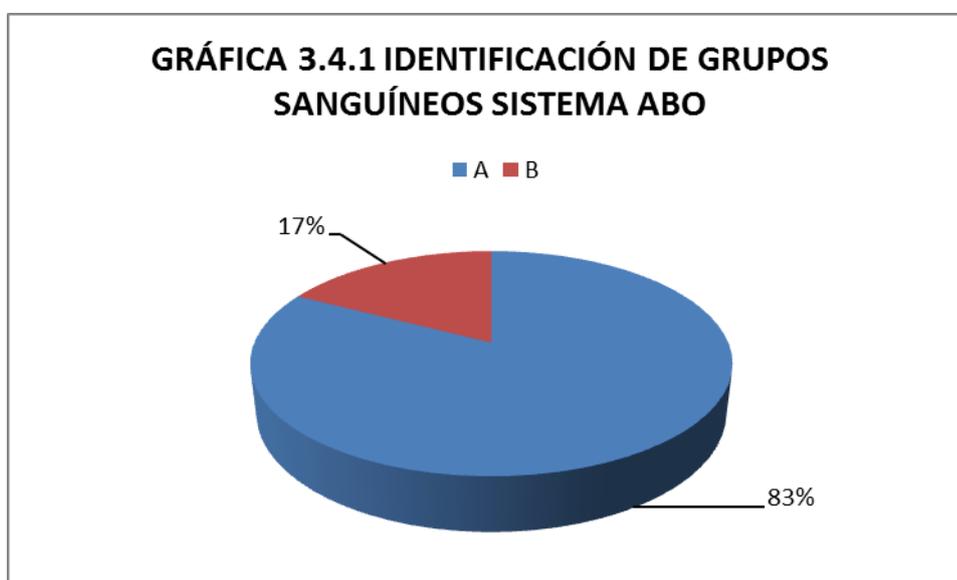
- Tabulación de los Datos.
- Demostración por cuadros gráficos y el análisis

3.4 ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.

3.4.1 TABLA N° 1 IDENTIFICACIÓN DE GRUPOS SANGUÍNEOS DEL SISTEMA ABO.

ALTERNATIVA	FRECUENCIA	PORCENTAJE
A	62	83%
B	13	17%
TOTAL	75	100%

*.FUENTE: LABORATORIO DEL SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
DISEÑO: JESSICA PILCO*



*FUENTE: LABORATORIO DEL SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
DISEÑO: JESSICA PILCO.*

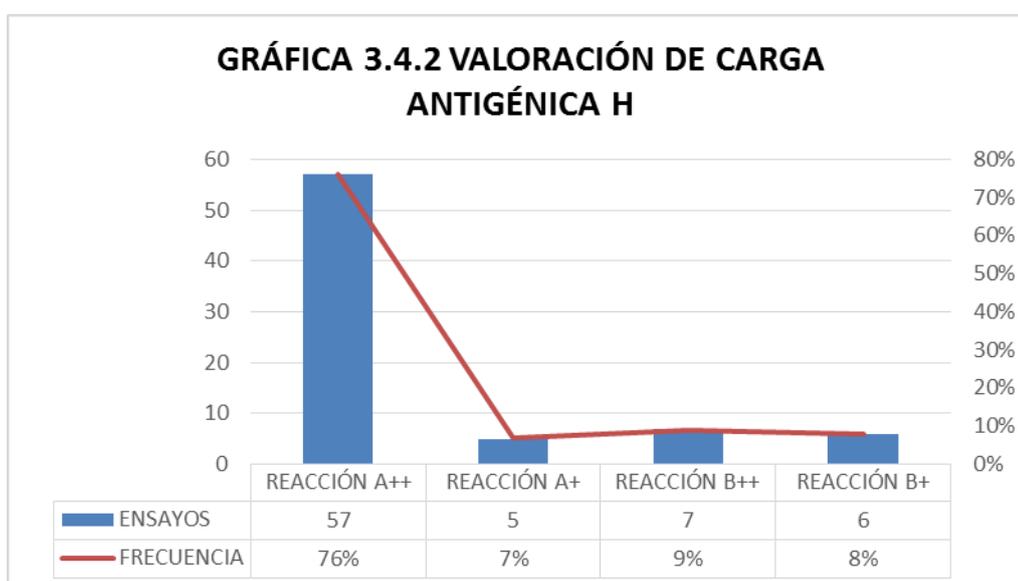
INTERPRETACIÓN:

Se registran 75 ensayos de tipificación sanguínea (ABO) en la población total estudiada con diversidad de estos ensayos 62 reportes corresponden al grupo sanguíneo A, representados en un 83% de la población y 13 ensayos al grupo sanguíneo B representados en un 17% de la población.

3.4.2 TABLA N° 2 VALORACIÓN DE LA CARGA ANTIGÉNICA - H.

ALTERNATIVA	FRECUENCIA	PORCENTAJE
REACCIÓN A++	57	76%
REACCIÓN A+	5	7%
REACCIÓN B++	7	9%
REACCIÓN B+	6	8%
TOTAL	75	100%

FUENTE: LABORATORIO DEL SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
DISEÑO: JESSICA PILCO.



FUENTE: LABORATORIO DEL SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
DISEÑO: JESSICA PILCO.

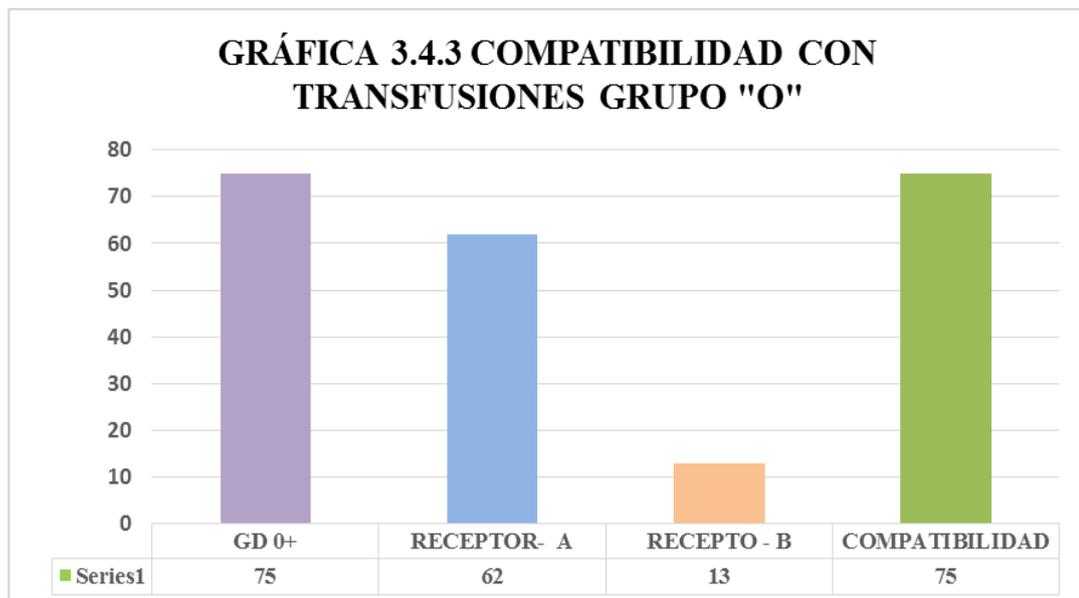
INTERPRETACIÓN:

La valoración de carga antigénica H varía por el grupo sanguíneo en relación a la carga antigénica del grupo al que pertenece. Se identifica que existe antígeno H en los grupos A y B. 57 ensayos del grupo A tienen una intensidad de reacción de 2+ para el antígeno H y 5 grupos A con una carga antigénica de H+. Lo mismo se evidencia en el grupo sanguíneo B. Estos pacientes serán sometidos a transfusiones y se verificara la carga antigénica del donante y su compatibilidad.

3.4.3 TABLA N° 3 ESTUDIOS DE COMPATIBILIDAD CON TRANSFUSIONES DE GRUPO “O”

ALTERNATIVA	FRECUENCIA	PORCENTAJE
PACIENTE GRUPO A (62)	62	83%
PACIENTE GRUPO B (13)	13	17%
TOTAL	75	100%

FUENTE: LABORATORIO DEL SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
DISEÑO: JESSICA PILCO.



FUENTE: LABORATORIO DEL SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
DISEÑO: JESSICA PILCO.

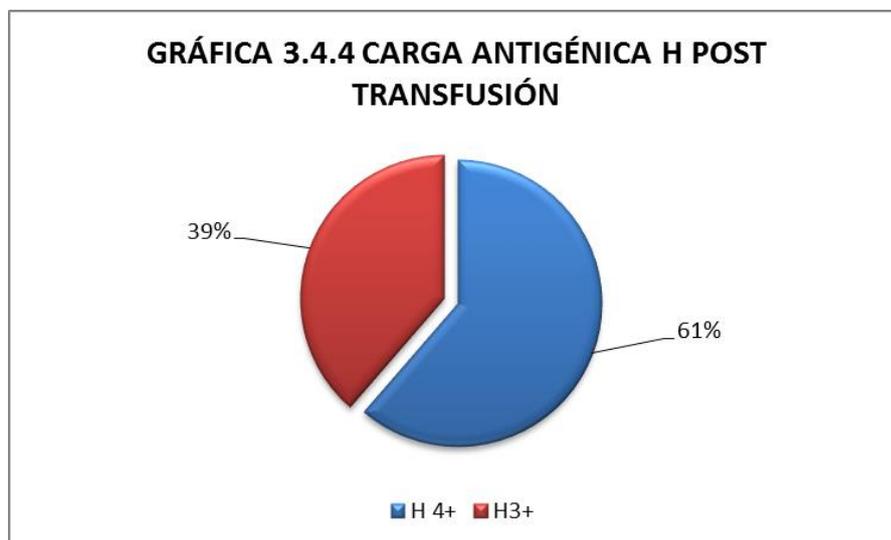
INTERPRETACIÓN:

Se procedió a compatibilizar mediante las pruebas cruzadas o de compatibilidad unidades de grupo O Rh positivo con 62 pacientes de grupo sanguíneo A y 13 pacientes de grupo sanguíneo B, los resultados fueron compatibles lo que indica que se procede a la transfusión de estos componentes sin riesgos de reacción.

3.4.4 TABLA N° 4 VALORACIÓN DE LA CARGA ANTIGÉNICA H POS-TRANSFUSIÓN

ALTERNATIVA	FRECUENCIA	PORCENTAJE
H 4+	46	61%
H3+	29	39%
TOTAL	75	100%

FUENTE: LABORATORIO DEL SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
DISEÑO: JESSICA PILCO.



FUENTE: LABORATORIO DEL SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
DISEÑO: JESSICA PILCO.

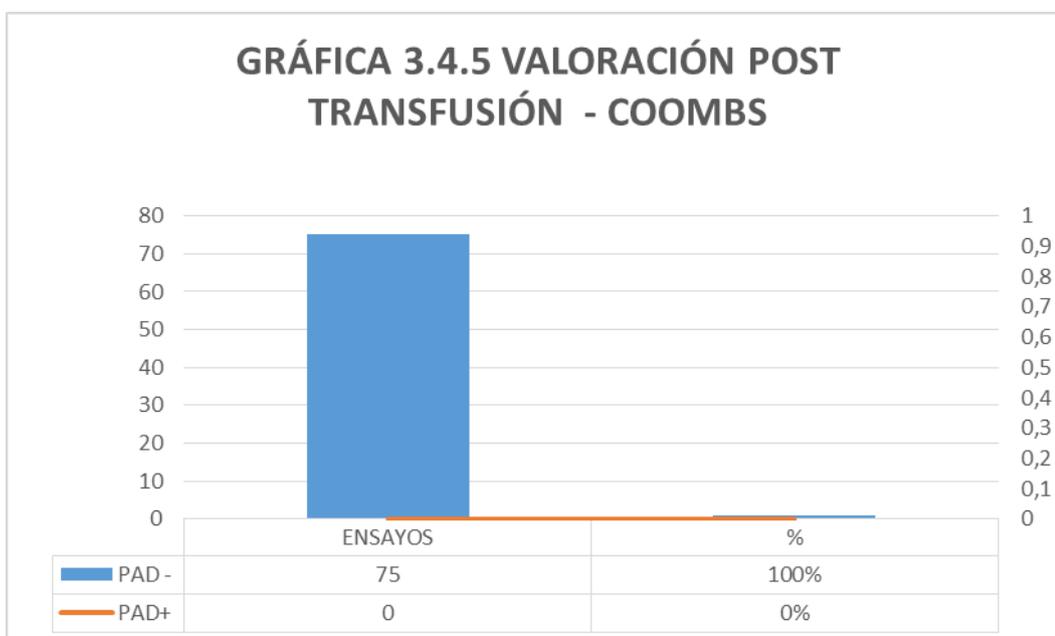
INTERPRETACIÓN:

Se valoró la carga antigénica H luego de la transfusión y los resultados son para el antígeno H 4+ en el 61% de las muestras de los pacientes y H3+ en el 39% de pacientes, se evidencia una creciente de la carga antigénica H luego de la transfusión sin reporte de reacciones adversa a la administración de sangre.

3.4.5 TABLA N° 5 VALORACIÓN POST-TRANSFUSIÓN CON PRUEBA DE COOMBS DIRECTO

EFFECTIVIDAD DE LA ALTERNATIVA TRANSFUSIONAL	FRECUENCIA	PORCENTAJE
Coombs directo negativo	75	100%
Coombs directo positivo	0	0%
TOTAL	75	100%

FUENTE: LABORATORIO DEL SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
DISEÑO: JESSICA PILCO.



FUENTE: LABORATORIO DEL SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
DISEÑO: JESSICA PILCO.

INTERPRETACIÓN:

La transfusión alternativa de grupo sanguíneo O en pacientes A y B con diversidad de carga antigénica H, no provocó la respuesta inmune con producción de anticuerpos anti-H esto se evidencia en las 75 transfusiones de grupo O aplicados a los pacientes A y B con la prueba de Coombs post transfusión.

3.5 COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS

HI: Valorar la carga antigénica H de los grupos sanguíneos ABO, permite el uso de las alternativas transfusionales con la administración de paquetes globulares sin provocar reacciones hemolíticas.

Comprobación de la Hipótesis

GD 0+	RECEPTOR- A	RECEPTO - B	COMPATIBILIDAD	H 4+	H3+	PAD -	PAD+
75	62	13	75	46	29	75	0

*FUENTE: LABORATORIO DEL SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
DISEÑO: JESSICA PILCO.*

Si se puede prevenir reacciones hemolíticas transfusionales con el uso de alternativas transfusionales al evaluar la carga antigénica H en grupos sanguíneos de pacientes A y B, así se evidencia en la evaluación pre transfusional del antígeno H por la intensidad de reacción y con el Coombs directo como evidencia de la generación de anticuerpos irregulares por transfusiones de grupo O que contienen mayor carga antigénica H.

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

- Se identificó el antígeno H mediante la prueba de tipificación sanguínea por intensidad de reacción siendo este antígeno frecuente encontrarlo en la diversidad de grupos sanguíneos que se identificó.
- La prueba de tipificación sanguínea representa una herramienta muy útil en las pruebas de compatibilidad ya que gracias a este ensayo se puede limitar o dar paso a los ensayos de compatibilidad porque se conoce la carencia o presencia de antígenos relacionados a los grupos sanguíneos.
- Se empleó la prueba de Coombs como un recurso de calidad a los resultados de los ensayos pretransfusionales como también al proceso inmunológico de la transfusión al usar sangre de grupo diferente con el receptor.

4.2 Recomendaciones

- Se recomienda valorar el antígeno H en situaciones de transfusiones sanguíneas en las que se desea emplear alternativas de grupos sanguíneos para prevenir las reacciones transfusionales asociadas a este antígeno.
- Para garantizar un ensayo de compatibilidad la prueba base y primaria de este proceso es la tipificación sanguínea, por ello se recomienda utilizar reactivos de clasificación y su clasificación de antígenos de grupos sanguíneos.
- Se recomienda emplear los ensayos de Coombs directo previo a la transfusión para descartar la sensibilización de los hematíes del receptor por exposiciones a transfusiones o antígenos extraños y después del proceso transfusional para descartar la aloinmunización a consecuencia de transfusiones de sangre que contengan antígenos diferentes al paciente.

Bibliografía

- BELÁEZ, G. (2009). Sistema de grupo sanguíneo ABO. Colombia: Colombiana.
- BERMARE, P. (2015). Estructura química antígenos ABO.
- CELULAR, S. E. (2010). transfusión de componentes sanguíneos y derivados plasmáticos. Revista guía sobre la transfusión , 43-47.
- CONCENTRADOS GLOBULARES. (2010). Guía sobre la transfusión de componentes.
- COPPO, B. (2004). <http://exa.unne.edu.ar/bioquimica/fisiologia.humana/APUNTE%20GS.pdf>
- DUEÑAS, V. H. (2003). El Banco de Sangre, segunda edición. Colombia.
- DVORKIN, M. C. (2010). Bases Fisiológicas de la Práctica médica. Argentina: Panamericana.
- ESCOBAR, A. (2006). Manual de prácticas de Inmunología. México: Unison.
- FAUSTINA, R. (2012). Laboratorio de Diagnóstico Clínico . España: Parainfo.
- GASTON, F. M. (2007). Terapia transfusional criterios e indicaciones.
- GENARO, A. (s.f.). 2000. Médica panamericana.
- GÓMEZ, T. A. (2012). Obtenido de Grupos sanguíneos Historia y evolución : <https://andresjesusgomeztorreblanca.files.wordpress.com/2012/10/e-book-grupos.pdf>
- HERNANDEZ, F. (2014). Manual de medicina en urgencias. México: Manual Moderno.
- INMUNOCOR, G. (2000). http://www.felsan.com.ar/productos/imagenes/insertos_certificados%20rediar/sueros_raros/Anti%20A1%20Lectin_Anti%20H%20Lectin.pdf. Obtenido de
- JARAMILLO, F. (2010). http://issuu.com/fernandojaramillo75/docs/guia_practica_para_pruebas_inmunohe_07567c2c127898. Obtenido de LINEAR, C. (2000). Obtenido de http://www.linear.es/ficheros/archivos/880_34400-C.pdf: http://www.linear.es/ficheros/archivos/880_34400-C.pdf
- JARAMILLO, F. (2010). http://issuu.com/fernandojaramillo75/docs/guia_practica_para_pruebas_in

munohe_07567c2c127898. Obtenido de
http://issuu.com/fernandojaramillo75/docs/guia_practica_para_pruebas_inmunologicas
munohe_07567c2c127898.

KAUFMAN, G. Y. (Abril de 1992). Uninet Corporation. Obtenido de Emergencias y cuidados: <http://tratado.uninet.edu/c060206.html>

LLAUPITARCH J, G. A. (2010). Tratado de Medicina Transfusional Perioperatoria. España: Elsevier.

MESA, M. D. (2015). Transfusiones sanguíneas. España.

PAREDES, J. (2012). Reacción de aglutinación.

RODRIGUEZ, M. (2014). El Banco de Sangre y la Medicina Transfusional. México: Panamericana.

ROSARIO, A. (2000). <http://ecaths1.s3.amazonaws.com/catmicromed/Tecnicas%20inmunoserologicas.pdf>.

RUIZ, A. (2009). Fundamentos de Hematología. Mexico.

SALOMÓN, G. (2006). Literatura Grupos Sanguíneos ABO Y RH. España: Panamericana.

TÈCNICOS, C. D. (2002). Atención especializada de la comunidad Autónoma de Aragón. Madrid-España: Mad, España.

TORRES, L. (2001). Tratado de anestesia y reanimación. España: Arán.

ANEXOS

VALORACIÓN ANTIGÉNICA ABO EN PACIENTES DE MEDICINA INTERNA

ENSAYOS	Ag - A	Ag- B	Ag - D	Ag-H	GRUPO
1	positivo	negativo	positivo	++	A+
2	positivo	negativo	positivo	++	A+
3	positivo	negativo	positivo	++	A+
4	positivo	negativo	positivo	++	A+
5	positivo	negativo	positivo	++	A+
6	positivo	negativo	positivo	++	A+
7	positivo	negativo	positivo	++	A+
8	positivo	negativo	positivo	++	A+
9	positivo	negativo	positivo	++	A+
10	positivo	negativo	positivo	++	A+
11	positivo	negativo	positivo	++	A+
12	positivo	negativo	positivo	++	A+
13	positivo	negativo	positivo	++	A+
14	positivo	negativo	positivo	++	A+
15	positivo	negativo	positivo	++	A+
16	positivo	negativo	positivo	++	A+
17	positivo	negativo	positivo	++	A+
18	positivo	negativo	positivo	++	A+
19	positivo	negativo	positivo	++	A+
20	positivo	negativo	positivo	++	A+
21	positivo	negativo	positivo	++	A+
22	positivo	negativo	positivo	++	A+
23	positivo	negativo	positivo	++	A+
24	positivo	negativo	positivo	++	A+
25	positivo	negativo	positivo	++	A+
26	positivo	negativo	positivo	++	A+
27	positivo	negativo	positivo	++	A+
28	positivo	negativo	positivo	++	A+
29	positivo	negativo	positivo	++	A+
30	positivo	negativo	positivo	++	A+

31	positivo	negativo	positivo	++	A+
32	positivo	negativo	positivo	++	A+
33	positivo	negativo	positivo	++	A+
34	positivo	negativo	positivo	++	A+
35	positivo	negativo	positivo	++	A+
36	positivo	negativo	positivo	++	A+
37	positivo	negativo	positivo	++	A+
38	positivo	negativo	positivo	++	A+
39	positivo	negativo	positivo	++	A+
40	positivo	negativo	positivo	++	A+
41	positivo	negativo	positivo	++	A+
42	positivo	negativo	positivo	++	A+
43	positivo	negativo	positivo	++	A+
44	positivo	negativo	positivo	++	A+
45	positivo	negativo	positivo	++	A+
46	positivo	negativo	positivo	++	A+
47	positivo	negativo	positivo	++	A+
48	positivo	negativo	positivo	++	A+
49	positivo	negativo	positivo	++	A+
50	positivo	negativo	positivo	++	A+
51	positivo	negativo	positivo	++	A+
52	positivo	negativo	positivo	++	A+
53	positivo	negativo	positivo	++	A+
54	positivo	negativo	positivo	++	A+
55	positivo	negativo	positivo	++	A+
56	positivo	negativo	positivo	++	A+
57	positivo	negativo	positivo	++	A+
58	positivo	negativo	positivo	+	A+
59	positivo	negativo	positivo	+	A+
60	positivo	negativo	positivo	+	A+
61	positivo	negativo	positivo	+	A+
62	positivo	negativo	positivo	+	A+
63	negativo	positivo	positivo	+	B+

64	negativo	positivo	positivo	+	B+
65	negativo	positivo	positivo	+	B+
66	negativo	positivo	positivo	+	B+
67	negativo	positivo	positivo	+	B+
68	negativo	positivo	positivo	++	B+
69	negativo	positivo	positivo	++	B+
70	negativo	positivo	positivo	++	B+
71	negativo	positivo	positivo	++	B+
72	negativo	positivo	positivo	++	B+
73	negativo	positivo	positivo	++	B+
74	negativo	positivo	positivo	++	B+
75	negativo	positivo	positivo	++	B+

TABLA 9 VALORACIÓN ANTIGÉNICA ABO
Fuente: Laboratorio del Servicio de medicina Transfusional del HPGDR
Diseño: Jessica Pilco.

COMPATIBILIDAD

MUESTRA	PCM	CONTROL	RESULTADO
1	-	+	compatible
2	-	+	compatible
3	-	+	compatible
4	-	+	compatible
5	-	+	compatible
6	-	+	compatible
7	-	+	compatible
8	-	+	compatible
9	-	+	compatible
10	-	+	compatible
11	-	+	compatible
12	-	+	compatible
13	-	+	compatible
14	-	+	compatible

15	-	+	compatible
16	-	+	compatible
17	-	+	compatible
18	-	+	compatible
19	-	+	compatible
20	-	+	compatible
21	-	+	compatible
22	-	+	compatible
23	-	+	compatible
24	-	+	compatible
25	-	+	compatible
26	-	+	compatible
27	-	+	compatible
28	-	+	compatible
29	-	+	compatible
30	-	+	compatible
31	-	+	compatible
32	-	+	compatible
33	-	+	compatible
34	-	+	compatible
35	-	+	compatible
36	-	+	compatible
37	-	+	compatible
38	-	+	compatible
39	-	+	compatible
40	-	+	compatible
41	-	+	compatible
42	-	+	compatible
43	-	+	compatible
44	-	+	compatible
45	-	+	compatible
46	-	+	compatible
47	-	+	compatible

48	-	+	compatible
49	-	+	compatible
50	-	+	compatible
51	-	+	compatible
52	-	+	compatible
53	-	+	compatible
54	-	+	compatible
55	-	+	compatible
56	-	+	compatible
57	-	+	compatible
58	-	+	compatible
59	-	+	compatible
60	-	+	compatible
61	-	+	compatible
62	-	+	compatible
63	-	+	compatible
64	-	+	compatible
65	-	+	compatible
66	-	+	compatible
67	-	+	compatible
68	-	+	compatible
69	-	+	compatible
70	-	+	compatible
71	-	+	compatible
72	-	+	compatible
73	-	+	compatible
74	-	+	compatible
75	-	+	compatible

TABLA 10 COMPATIBILIDAD

Fuente: Laboratorio del Servicio de Medicina Transfusional del HPGDR

Diseño: Jessica Pilco.

VALORACIÓN DE LA CARGA ANTIGÉNICA H POST - TRANSFUSIÓN.

ENSAYOS	Ag-H	GRUPO
1	++++	A+
2	++++	A+
3	++++	A+
4	++++	A+
5	++++	A+
6	++++	A+
7	++++	A+
8	++++	A+
9	++++	A+
10	++++	A+
11	++++	A+
12	++++	A+
13	++++	A+
14	++++	A+
15	++++	A+
16	++++	A+
17	++++	A+
18	++++	A+
19	++++	A+
20	++++	A+
21	++++	A+
22	++++	A+
23	++++	A+
24	++++	A+
25	++++	A+
26	++++	A+
27	++++	A+
28	++++	A+
29	++++	A+
30	++++	A+

31	++++	A+
32	++++	A+
33	++++	A+
34	++++	A+
35	++++	A+
36	++++	A+
37	++++	A+
38	++++	A+
39	++++	A+
40	++++	A+
41	++++	A+
42	++++	A+
43	++++	A+
44	++++	A+
45	++++	A+
46	++++	A+
47	+++	A+
48	+++	A+
49	+++	A+
50	+++	A+
51	+++	A+
52	+++	A+
53	+++	A+
54	+++	A+
55	+++	A+
56	+++	A+
57	+++	A+
58	+++	A+
59	+++	A+
60	+++	A+
61	+++	A+
62	+++	A+

63	+++	B+
64	+++	B+
65	+++	B+
66	+++	B+
67	+++	B+
68	+++	B+
69	+++	B+
70	+++	B+
71	+++	B+
72	+++	B+
73	+++	B+
74	+++	B+
75	+++	B+

TABLA 11 VALORACIÓN ANTIGÈNICA POST TRANSFUSIÒN
Fuente: Laboratorio del Servicio de Medicina Transfusional del HPGDR
Diseño: Jessica Pilco.

VALORACIÓN POST TRANSFUSIÓN CON PRUEBA DE COOMBS DIRECTO

MUESTRA	PAD	CONTROL
1	-	+
2	-	+
3	-	+
4	-	+
5	-	+
6	-	+
7	-	+
8	-	+
9	-	+
10	-	+
11	-	+
12	-	+
13	-	+

14	-	+
15	-	+
16	-	+
17	-	+
18	-	+
19	-	+
20	-	+
21	-	+
22	-	+
23	-	+
24	-	+
25	-	+
26	-	+
27	-	+
28	-	+
29	-	+
30	-	+
31	-	+
32	-	+
33	-	+
34	-	+
35	-	+
36	-	+
37	-	+
38	-	+
39	-	+
40	-	+
41	-	+
42	-	+
43	-	+
44	-	+
45	-	+
46	-	+

47	-	+
48	-	+
49	-	+
50	-	+
51	-	+
52	-	+
53	-	+
54	-	+
55	-	+
56	-	+
57	-	+
58	-	+
59	-	+
60	-	+
61	-	+
62	-	+
63	-	+
64	-	+
65	-	+
66	-	+
67	-	+
68	-	+
69	-	+
70	-	+
71	-	+
72	-	+
73	-	+
74	-	+
75	-	+

TABLA 12 VALORACIÓN ANTIGÉNICA CON PRUEBA DE COOMBS
Fuente: Laboratorio del Servicio de Medicina Transfusional del HPGDR
Diseño: Jessica Pilco.



FIGURA 31 REALIZACIÓN DE ENSAYOS
Fuente: Laboratorio del Servicio de Medicina Transfusional del HPGDR
Diseño: Jessica Pilco.



FIGURA 32 LECTURA DE LOS RESULTADOS
Fuente: Laboratorio del Servicio de Medicina Transfusional del HPGDR
Diseño: Jessica Pilco.



FIGURA 33 SELECCIÓN DE PLASMAS
Fuente: Laboratorio del Servicio de Medicina Transfusional del HPGDR
Diseño: Jessica Pilco.



FIGURA 34 SELECCIÓN DE PAQUETES GLOBULARES
Fuente: Laboratorio del Servicio de Medicina Transfusional del HPGDR
Diseño: Jessica Pilco.



FIGURA 35 PAQUETES GLOBULARES EN HEMOTECA
Fuente: Laboratorio del Servicio de Medicina Transfusional del HPGDR
Diseño: Jessica Pilco.

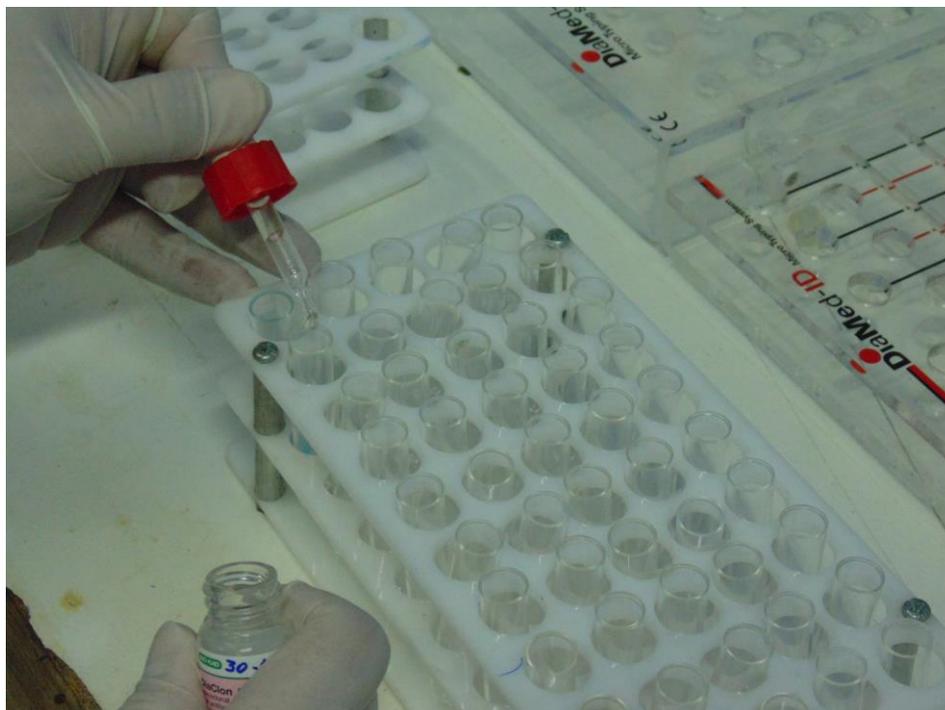


FIGURA 36 ENSAYOS
Fuente: Laboratorio del Servicio de Medicina Transfusional del HPGDR
Diseño: Jessica Pilco.



FIGURA 37 HEMATÍES SUSPENDIDOS

*Fuente: Laboratorio del Servicio de Medicina Transfusional del HPGDR
Diseño: Jessica Pilco.*



FIGURA 38 COLOCACIÓN DE MUESTRAS

*Fuente: Laboratorio del Servicio de Medicina Transfusional del HPGDR
Diseño: Jessica Pilco.*