



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA**  
**ESPECIALIDAD LABORATORIO CLÍNICO E**  
**HISTOPATOLÓGICO**

**TÍTULO**

“PREPARACIÓN DEL PANEL DE CÉLULAS CASERAS PARA IDENTIFICAR ANTICUERPOS INESPECÍFICOS EN PERSONAS QUE REQUIERAN DE TRANSFUSIONES SANGUÍNEAS, UTILIZANDO MUESTRAS DE SANGRE DE USUARIOS QUE ACUDEN AL SERVICIO DEL LABORATORIO CLÍNICO DEL HOSPITAL CIVIL DE ALAUSÍ, DURANTE EL PERÍODO ENERO – JUNIO DEL 2012”

**AUTOR(S):**

Verónica Moreno

Rosa Bonilla

**TUTOR(S):**

Lic. Fernando Jaramillo

**RIOBAMBA, DICIEMBRE 2011**

### **DERECHOS DE AUTORIA:**

Nosotras Moreno Caisa Verónica  
Elizabeth y Bonilla Pilamunga  
Rosa Elizabeth somos  
responsables de las ideas,  
criterios, pensamientos y  
resultados expuestos en el  
presente trabajo investigativo, los  
derechos de autoría pertenecen a  
la UNIVERSIDAD NACIONAL DE  
CHIMBORAZO

### **DEDICATORIA:**

La presente tesis es un esfuerzo en el cual, directa o indirectamente, participaron varias personas leyendo, opinando, corrigiendo, teniéndome paciencia, dando ánimo, acompañando en todos los momentos.

Esta tesis está dedicada a mis padres, a quienes agradezco de todo corazón por su amor, cariño y comprensión, a mis hermanos por la compañía y el apoyo que me brindan, a Dios por llenar mi vida de dicha y bendiciones, a mis maestros por su disposición y ayuda brindadas.

**BONILLA PILAMUNGA ROSA  
ELIZABETH.**

### **DEDICATORIA:**

A las siguientes promociones que han tomado como objeto luchar por un futuro mejor, por si mismo y del paciente a tratar y en especial a mi escuela de Laboratorio Clínico e Histopatológico virtuosa en educación.

A los alumnos (as) razón fundamental de la educación.

A mi familia: padres, hermanos y sobrinos, fuente de ayuda e impulso permanente para mi superación.

**MORENO CAISA VERÓNICA  
ELIZABETH.**

### **AGRADECIMIENTO:**

Agradecemos a nuestros padres por mantener siempre la fe y confianza en nuestra labor como estudiantes, además del apoyo moral y económico.

A nuestros hermanos y sobrinos que también han estado a nuestro lado en los momentos de desvelo por un futuro mejor.

# ÍNDICE

SUMARY .....	8
RESUMEN.....	9
INTRODUCCIÓN.....	10
CAPÍTULO I .....	12
<b>1. PROBLEMATIZACIÓN.</b> .....	12
<b>1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	12
<b>1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA</b> .....	12
<b>1.3. OBJETIVOS</b> .....	13
<b>1.3.1. OBJETIVO GENERAL</b> .....	13
<b>1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	13
<b>1.4. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA</b> .....	13
CAPÍTULO II .....	15
<b>2. MARCO TEÓRICO</b> .....	15
<b>2.1. POSICIONAMIENTO PERSONAL</b> .....	15
<b>2.2. FUNDAMENTACIÓN TEÒRICA</b> .....	15
2.2.1. PRINCIPIOS DE INMUNOHEMATOLOGÍA .....	15
ANTÍGENOS .....	16
ANTICUERPOS.....	20
RESPUESTA INMUNE.....	33
SISTEMA DE COMPLEMENTO.....	39
REACCIONES DE HEMAGLUTINACIÓN .....	47
MEDIOS DE REACCIÓN QUE FAVORECEN LA REACCIÓN ANTÍGENO – ANTICUERPO .....	50
POTENCIAL Z .....	52

2.2.2. TEST DE COOMBS .....	53
TÉCNICA PARA LA REALIZACIÓN DE COOMBS DIRECTO .....	55
TÉCNICA PARA LA DETERMINACIÓN DEL COOMBS INDIRECTO .....	56
CELULAS CONTROL COOMBS .....	58
LAVADO Y SUSPENSION.....	59
DETERMINACIÓN ABO EN TUBO - DIRECTO .....	59
DETERMINACIÓN ABO EN TUBO - INVERSA.....	61
TIPIFICACIÓN RH D,C,E,c,e.....	62
PREPARACION DEL PANEL DE CÉLULAS .....	62
INTENSIDAD DE REACCIÓN DE ANTISUEROS.....	66
2.2.3. REACCIONES TRANSFUSIONALES .....	67
CONTROL DE CALIDAD .....	71
<b>2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS .....</b>	<b>84</b>
<b>2.4. HIPÓTESIS Y VARIABLES .....</b>	<b>87</b>
<b>2.4.1. HIPÓTESIS.....</b>	<b>87</b>
<b>2.4.2. VARIABLES.....</b>	<b>87</b>
<b>2.5. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....</b>	<b>87</b>
CAPÍTULO III .....	89
<b>3. MARCO METODOLÓGICO.....</b>	<b>89</b>
<b>3.1. MÉTODO .....</b>	<b>89</b>
<b>3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA.....</b>	<b>89</b>
<b>3.2.1. POBLACIÓN .....</b>	<b>89</b>
<b>3.2.2. MUESTRA.....</b>	<b>90</b>
<b>3.3. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS .....</b>	<b>90</b>
<b>3.3.1. TÉCNICAS .....</b>	<b>90</b>

<b>3.3.2. INSTRUMENTOS</b> .....	90
<b>3.4. TÉCNICAS PARA EL ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS</b> .....	90
<b>3.5. DATOS ESTADÍSTICOS</b> .....	91
<b>TABLA N° 1</b> .....	91
GRÁFICO N° 1 TABLA N° 1                      GRÁFICO N° 2 TABLA N° 1 .....	91
TABLA N° 2.....	92
GRÁFICA N° 1 TABLA N° 2.....	93
GRÁFICA N° 2 TABLA N° 2.....	93
TABLA N° 3.....	94
GRÁFICA N° 1 TABLA N° 3.....	95
GRÁFICA N° 2 TABLA N° 3.....	95
TABLA N° 4.....	96
GRÁFICA N° 1 TABLA N° 4.....	97
TABLA N° 5.....	98
GRÁFICA N° 1 TABLA N° 5.....	98
TABLA N° 6.....	99
GRÁFICA N° 1 TABLA N° 6.....	99
<b>CAPÍTULO IV</b> .....	100
<b>4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES:</b> .....	100
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	102
<b>IDENTIFICACIÓN DE FENOTIPOS RH</b> .....	105
<b>ESQUEMA COMPOSICIÓN DE LAS CÉLULAS PANTALLAS I – II – III</b> .....	114
<b>ENSAYOS DE RASTREO DE ANTICUERPOS CON PANELES CASEROS - CPDA1</b> .	115

## SUMMARY

Coombs tests or also called anti globulin are tests that are part of pre-transfusion tests or blood compatibility. The coombs test is used to identify the irregular or nonspecific antibodies present in the serum or plasma of the recipient and / or donor or linked to the membrane of red blood cells.

These irregular antibodies arise by antigenic stimulation, identified stimuli are blood transfusions and maternal fetal incompatible pregnancies by not timely identified these antibodies could result in the blood receptor or blood products sensitization and antigen - antibody reaction as a result of this event will occur at the receiver the destruction of red blood cells to which we will identify as hemolytic transfusion reactions.

This study is based on the fact that at present there is high percentage of post transfusion reactions due to the lack of reagents which apply the technique of determination with the home cell preparation thus reducing costs directly benefit analysis laboratories using this technique by indirect Coombs improving the quality of the results for the receptor's benefit.

## RESUMEN

Las pruebas de coombs o también llamadas anti globulínicas son pruebas que forman parte de las pruebas pre transfusionales o de compatibilidad sanguínea. El test de coombs es utilizado para identificar a los anticuerpos irregulares o inespecíficos que están presentes en el suero o plasma del receptor y/o donante o ligadas a la membrana de los glóbulos rojos.

Estos anticuerpos irregulares surgen por un estímulo antigénico, los estímulos identificados son las transfusiones sanguíneas y los embarazos feto maternos incompatibles al no identificarse oportunamente a estos anticuerpos podrían ocasionar en el receptor de sangre o hemoderivados la sensibilización y la reacción antígeno - anticuerpo como consecuencia de este evento se producirá en el receptor la destrucción de los hematíes a las que vamos a identificar como las reacciones transfusionales hemolíticas.

Esta investigación se basa en el hecho de que en actualidad existe altos porcentajes de reacciones post transfusionales debido a la falta de reactivos por lo cual aplicamos la técnica de determinación con la preparación de células caseras disminuyendo así los costos beneficiando directamente a los laboratorios de análisis empleando dicha técnica mediante la prueba de coombs indirecta mejorando la calidad de los resultados en beneficio para el receptor.

## INTRODUCCIÓN

Las pruebas de coombs o también llamadas anti globulínicas son pruebas que forman parte de las pruebas pre transfusionales o de compatibilidad sanguínea. El test de coombs es utilizado para identificar a los anticuerpos irregulares o inespecíficos que están presentes en el suero o plasma del receptor y/o donante o ligadas a la membrana de los glóbulos rojos.

Estos anticuerpos irregulares surgen por un estímulo antigénico, los estímulos identificados son las transfusiones sanguíneas y los embarazos feto maternos incompatibles al no identificarse oportunamente a estos anticuerpos podrían ocasionar en el receptor de sangre o hemoderivados la sensibilización y la reacción antígeno - anticuerpo como consecuencia de este evento se producirá en el receptor la destrucción de los hematíes a las que vamos a identificar como las reacciones transfusionales hemolíticas.

Las casas comerciales ofertan el panel de células, que están compuestas por una serie de antígenos correspondientes a distintos sistemas de grupos sanguíneos, entre ellos el Rh, Kell, Lutheran y Duffy. Su costo es elevado y no es accesible su utilización en los laboratorios clínicos por ejemplo cuando se desea evaluar una incompatibilidad feto materna.

La propuesta de nuestro trabajo es preparar este panel de células a la cual se las denomina células caseras por nuestra situación geográfica y variación genética se prepararán células que contengan los antígenos para el sistema Rh, este sistema es el que presenta un alto porcentaje de posibilidades de reacciones transfusionales.

La presente investigación consta de un capítulo I donde se describe en el planteamiento del tema, formulación, objetivos generales específicos, la justificación e importancia del tema.

En el capítulo II se habla de la fundamentación teórica la cual consta de los temas, principios de inmunohematología, test de coombs, reacciones transfusionales y definición de términos básicos, cada uno de los mismos engloba subtemas.

En el capítulo III se habla del método, población y muestra, técnicas e instrumentos de recolección de datos y técnicas para el análisis e interpretación de resultados.

# CAPÍTULO I

## 1. PROBLEMATIZACIÓN.

### 1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las pruebas inmunohematológicas se basan en la interacción de los antígenos y anticuerpos. El test de coombs se fundamenta en este principio, los reactivos y los medios de reacción utilizados tienen un alto costo.

En la mayoría de los laboratorios clínicos que ofertan el servicio con la realización del test de coombs tienen una alta limitación para rastrear estos anticuerpos (irregulares) dejando a un lado la identificación específica del anticuerpo identificado, con este reporte no se le da mucha ayuda al médico que requiere una precisión de resultados para un diagnóstico y tratamiento oportuno.

El preparar las células llamadas caseras es una alternativa de la mejora a la prueba de coombs indirecta abaratando costos y mejorando la calidad de los resultados para apoyar a los tratamientos específicos.

### 1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Se puede identificar anticuerpos irregulares mediante la utilización del panel de células caseras con el propósito de prevenir reacciones transfusionales?

## **1.3.OBJETIVOS**

### **1.3.1. OBJETIVO GENERAL**

Preparar panel de células caseras para identificar anticuerpos inespecíficos en personas que requieren de transfusiones sanguíneas, utilizando muestras de sangre de usuarios que acuden al servicio del laboratorio clínico del Hospital de Alausí, durante el período Enero – Junio del 2012.

### **1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Identificar fenotipos mayores y menores del sistema Rh mediante la tipificación directa en tubo.
- Relacionar los fenotipos mayores y menores para la preparación del panel de células caseras.
- Valoración de anticuerpos irregulares mediante el uso del panel de células caseras preparadas.

## **1.4.JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA**

En investigaciones leídas que se realizaron una en Villa Clara y otra en la Habana tenían como objetivo conocer las reacciones adversas postransfusionales en la cual se consideraba que la reacción febril era la más común de las reacciones, por eso con nuestro trabajo de investigación pretendemos evitar las reacciones transfusionales mediante una adecuada detección de estos anticuerpos inespecíficos que son uno de los causantes de dichas reacciones transfusionales.<sup>24, 25</sup>

El desarrollo de la investigación consiste en la preparación del panel de células caseras para identificar anticuerpos inespecíficos siendo esencial para las transfusiones sanguíneas y de mucha ayuda para el médico tratante evitando las reacciones transfusionales hemolíticas mediante la prueba de coombs, que es una de las pruebas pre transfusionales para identificar los anticuerpos irregulares e inespecíficos, identificándolos oportunamente para que en la sangre del receptor no ocasione la sensibilización y la reacción antígeno –anticuerpo y no produzca en el receptor la destrucción de los hematíes.

Así como también disminuyendo costos ya que va a beneficiar directamente a los laboratorios de análisis empleando su técnica de determinación con la preparación de células caseras mediante la prueba de coombs indirecta mejorando así la calidad de los resultados en beneficio para el receptor.

También tendrán beneficio todas las personas evitando una reacción transfusional ya que se determinaría los anticuerpos inespecíficos mediante la preparación de células caseras.

## **CAPÍTULO II**

### **2. MARCO TEÓRICO**

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

La teoría del conocimiento o creencia con la que vamos a trabajar la presente investigación que se elabora es partiendo del conocimiento del pragmatismo alegando que nunca se puede separar la teoría de la práctica.

Dando a conocer que el pragmatismo se esfuerza por valorar los resultados, no la calidad de los procedimientos empleados. El objetivo de su reflexión es solamente el método de investigación, con la finalidad de indicar los modos mediante los que la realidad existente puede ser cambiada, dirigiéndose a lo concreto, a los hechos, y a la acción.

#### **2.2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA**

##### **2.2.1. PRINCIPIOS DE INMUNOHEMATOLOGÍA**

El término en inmunohematología se refiere a las reacciones inmunológicas de los antígenos y anticuerpos que reaccionan a nivel de las membranas celulares y que afectan todos los componentes de la sangre. La inmunohematología junto con la medicina transfusional, es una rama de la patología clínica que se ocupa de las siguientes materias: transfusión de la sangre y de sus componentes; patogenia, diagnóstico, prevención y tratamiento de inmunización (sensibilización).<sup>4</sup>

Uno de sus trabajos más importantes es el estudio de los grupos sanguíneos. Las pruebas inmunohematológicas se utilizan en los laboratorios de los bancos de sangre para tipificar los grupos sanguíneos y estudiar las compatibilidades sanguíneas para las transfusiones.<sup>3</sup>

## ANTÍGENOS

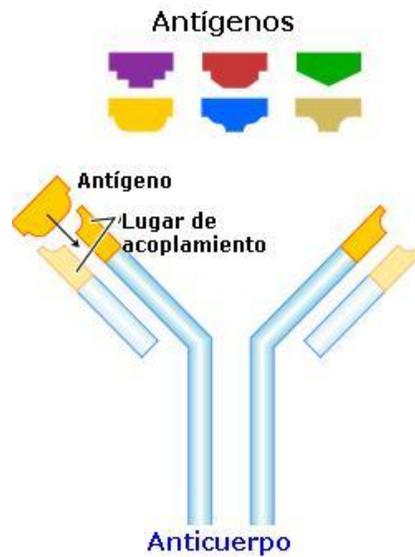


Figura 1:  
[www.google/imagenes/antigeno.ec](http://www.google/imagenes/antigeno.ec)

Es una molécula capaz de inducir a una respuesta inmune, por lo cual se le conoce también como inmunógeno. No todas las partes de la molécula puede inducir a una respuesta inmune, la que induce se le llama epítotope o determinante antigénico.

Un antígeno (o un inmunógeno) puede tener varios epítotos o determinantes antigénicos, cada uno de los cuales es reconocido de forma específica por un receptor concreto (el anticuerpo).

Para comprender el sistema inmunitario son esenciales las propiedades moleculares de los antígenos y la forma en que contribuyen a la activación inmunitaria. El sistema biológico determina si una molécula que se combina con un receptor de unión de antígeno de las células B o T puede inducir a continuación una reacción inmunitaria. Las diferencias fundamentales de la forma en que los linfocitos B y T reconocen el antígeno establecen las características moleculares de un antígeno que identifica cada rama del sistema inmunitario.<sup>1</sup>

Ahora se sabe que cualquier clase de molécula biológica, incluyendo metabolitos intermediarios, azúcares, lípidos y hormonas, así como macromoléculas del tipo de hidratos de carbono complejos, fosfolípidos, ácidos nucleicos y proteínas, pueden servir de antígenos. Sin embargo solo las macromoléculas pueden iniciar la activación linfocitaria necesaria para una respuesta de anticuerpos.<sup>5</sup>

Las moléculas que originan respuestas inmunitarias se llaman inmunógenos (aunque técnicamente precisos, el término más global) antígeno se utiliza todavía frecuentemente para referirse a los inmunógenos.

La ausencia de algunos antígenos eritrocitarios se asocia con síndromes clínicos específicos y el reconocimiento de estas asociaciones ha llevado a una mejor comprensión de la función de los antígenos de la membrana eritrocitaria.

Un antígeno es una sustancia que evoca una respuesta inmune en un huésped inmuno competente y que puede reaccionar con el anticuerpo producto de dicha respuesta inmune y cuya estructura y encaje estérico químico con el correspondiente anticuerpo son la llave de su especificidad. Un antígeno puede

poseer varios epítomos, o determinantes antigénicos, cada uno de los cuales puede provocar la aparición de un anticuerpo.<sup>7</sup>



Figura: 2

[www.google/imagenes/antigeno.ec](http://www.google/imagenes/antigeno.ec)

## ESTRUCTURA

Los antígenos tienen un peso molecular mayor a 100,000 daltons son los mejores inmunógenos también conocidos como proteínas englobando en su estructura polisacáridos y ácidos nucleicos procarióticos.

## CLASIFICACIÓN

**Xenoantígenos:** son antígenos o inmunógenos que se originan en una especie diferente a la inmunizada.

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

**Haloantígenos:** son antígenos o inmunógeno que provienen de la misma especie pero diferente genéticamente.

**Antígenos de órganos específicos:** están presentes en ojos: cristalino, tiroides: tiroglobulina, glándula suprarrenal, los anticuerpos producidos contra ellos permiten detectar proteínas propias de cada órgano esto facilita el empleo de anticuerpos inmuno fluorescentes para detectar procesos autoinmunes.

**Antígenos de los eritrocitos:** permiten clasificar a los grupos y subgrupos sanguíneos. Ej. Rh, Kell, Diego, MNSs.

**Antígenos específicos de especie:** están presentes en los individuos de la misma especie y difiere de los antígenos de otra especie.

**Antígenos de los leucocitos:** Estos se encuentran en casi todas las células nucleares son de importancia en la inmuno genética y en el control de la respuesta inmune.

**Antígenos ocultos:** Cristalino por falta de irrigación sanguínea/o linfática, el cerebro por la barrera hematoencefálica y el testículo por su barrera de células de SERTOLI tiene antígenos que están fuera del contacto del sistema inmune específico, pero traumatismos pueden poner en contacto proteínas con el sistema inmune.

**Antígenos tumorales:** Los antígenos tumorales o neoantígenos son aquellos antígenos que son presentados por moléculas MHC I o MHC II (del complejo mayor de histocompatibilidad) que se encuentran en la superficie de células tumorales. Cuando este tipo de antígenos son presentados por células provenientes de un tumor, en este caso serán llamadas antígenos tumorales específicos y generalmente, son resultado de una mutación específica. Muchos tumores presentan en la membrana de células, moléculas específicas que pueden ser reconocidas como antígenos por el sistema inmune.

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

## ANTICUERPOS

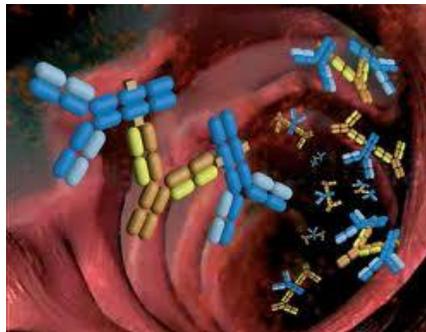


Figura 3:  
<http://www.google.ec/anticuerpo&oq=anticuerpo&aq=fcom.ec>

Glucoproteínas formadas por el organismo como respuesta al contacto con un antígeno y que reacciona específicamente contra él. Se les conoce también como INMUNOGLOBULINAS (Ig), la mayoría son  $\gamma$ -globulinas, pero otras pertenecen a la fracción  $\alpha$  o a la  $\beta$ .

Los anticuerpos secretados en la sangre, en donde sirven como los efectores de la inmunidad humoral; allí buscan y neutralizan antígenos o los marcan para su eliminación. Todos los anticuerpos comparten características estructurales, se unen a antígeno y participan en un número limitado de funciones efectoras.

Los anticuerpos que se producen como reacción a un antígeno particular son heterogéneos. Casi todos ellos son complejos y contienen muchos determinantes antigénicos diferentes; por lo regular, el sistema inmunitario responde a liberar anticuerpos contra varios epítomos en el antígeno.<sup>5</sup>

## **Estructura**

Parte proteica: 4 cadenas polipeptídicas unidas entre sí por enlaces covalentes y puentes disulfuro en forma de "Y": 2 cadenas "L" pequeñas; 2 cadenas "H" grandes y región bisagra que es la zona de unión de los tres brazos de la "Y".

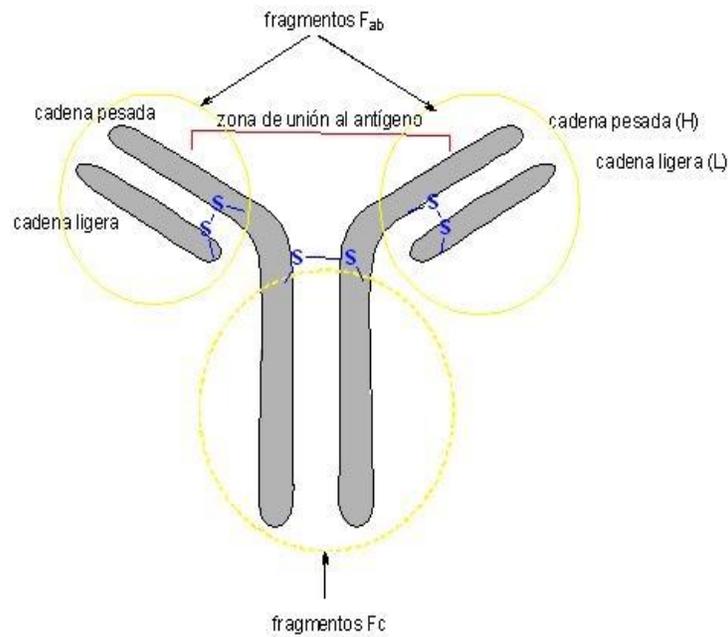


Figura 4:

<http://www.google.es/imgres?q=anticuerpo&.ec>

Cada cadena presenta varios Dominios (Regiones de tamaño uniforme):

**Región variable (V):** En el extremo amino-terminal, Secuencia de AA muy variable de unas Ig a otras. Solo una región V en la cadena (tanto en las H como en las L).

**Regiones constantes (C):** Es el resto de la cadena, secuencia de AA muy parecida en todas las Ig. Las cadenas L tienen una región C, las cadenas H tienen 3 o 4 regiones C.

**El paratope** es una porción de las CDR (Regiones Determinantes de la Complementariedad - Regiones Fab). Las regiones Fc intervienen en la fijación del complemento o la unión a tejidos.

Explicando así que las moléculas de anticuerpos tienen una estructura común de 4 cadenas peptídicas. Esta estructura se integra con dos cadenas ligeras (L) idénticas y polipeptídicas, con un peso molecular aproximado de 25.000, y 2 cadenas pesadas (H), también idénticas y polipeptídicas, aunque más grandes, con peso molecular de 50.000 o mayor. Al igual que las moléculas de anticuerpo que constituyen, las cadenas H y L también se llaman inmunoglobulinas. Cada cadena ligera está unida a una cadena pesada por un enlace disulfuro y por interacciones no covalentes, como uniones de sal y enlaces de hidrogeno e hidrófobos, para formar un hetero dímero (H-L). Las dos combinaciones idénticas de cadenas pesada y ligera (H-L) están unidas entre sí por interacciones no covalentes similares y por puentes disulfuro para formar la estructura de anticuerpo básica de 4 cadenas (H-L)  $2_2$ , un dímero de dímeros. Como se verá más adelante el número exacto y las posiciones precisas de estos enlaces disulfuro inter cadenas difieren entre las clases y sub clases de anticuerpo.

Alrededor de los 110 primeros aminoácidos de la región amino terminal de una cadena ligera o pesada varían de modo considerable entre anticuerpos de distinta especificidad. Estos segmentos de secuencia muy variables se conocen como regiones V: VL en las cadenas ligeras y VH en las pesadas. Todas las diferencias de especificidad que poseen los distintos anticuerpos pueden seguirse hasta variaciones en las secuencias de los aminoácidos de las regiones V. De hecho, la mayor parte de las diferencias entre los anticuerpos se encuentra dentro de las regiones V, llamadas regiones determinantes complementarias (CDR); esta CDR, sea en la cadena ligera o pesada, son las que constituyen los sitios de unión de antígeno de la molécula de anticuerpo. En contraste, dentro de la misma clase de anticuerpo se observan mucho menos diferencias cuando se comparan secuencias a lo largo del resto de la molécula. Las regiones de secuencia relativamente constante más allá de las regiones variables se han designado regiones C: CL en la cadena ligera y CH en la pesada. Los anticuerpos son

Glucoproteínas; con pocas excepciones, los sitios de fijación de carbohidratos están restringidos en la región constante.<sup>5</sup>

## CLASIFICACIÓN

### IgG:



Figura 5:

<http://www.google.com/search?q=Imágenes+inmunoglobulinas.com.ec>

Es el anticuerpo más abundante que se produce durante las respuestas inmunitarias humorales secundarias en la sangre. Neutraliza toxinas bacterianas, activa el complemento, sensibiliza y agrega microorganismos para estimular su fagocitosis (opsonización). Es la Ig más importante en la respuesta inmunitaria secundaria (linfocitos B2 de memoria).

La IgG, la clase más abundante en el suero, constituye alrededor del 80% del total de las inmunoglobulinas séricas. La molécula de IgG se integra con dos cadenas pesadas gamma y dos ligeras Kappa o lambda.

Los rasgos estructurales que diferencian a estas subclases entre sí son el tamaño de la región en bisagra y el número o posición de los enlaces disulfuro intercadena entre las cadenas pesadas.

La IgG es el anticuerpo predominante que se produce en la respuesta inmune secundaria, y por lo tanto es el de mayor importancia clínica en la medicina transfusional. La gran mayoría de los antígenos de los distintos grupos sanguíneos pueden desencadenar la producción de anticuerpos de tipo IgG que poseen las siguientes características: se detectan mediante pruebas basadas en sus características como reacción a 37° C, aglutinación indirecta y hemólisis; de ahí que las pruebas cruzadas de compatibilidad tengan como principal objetivo detectar e identificar anticuerpos de tipo IgG.

IgG1, IgG3 e IgG4 cruzan con facilidad la placenta y tienen una función importante en la protección del feto en desarrollo. Las subclases tienen diferentes arreglos de las uniones disulfurointercadena. En IgG1 la unión es en entre las cadenas H y L. En IgG2, IgG3 e IgG4 esta va entre la unión de la región variable y constante.

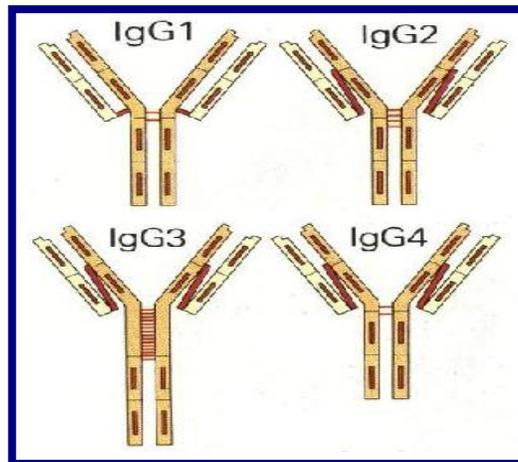


Figura 6:

<http://www.google.estructura+de+las+subclases+de+IgG&es/>

Dentro de la clase IgG, las concentraciones relativas de las 4 subclases son aproximadamente como sigue: IgG1 60 a 70%, IgG2 14 a 20%, IgG3 4 a 8%, e IgG4 2 a 6%. Estos valores varían un tanto entre diferentes individuos; parece que

la propensión a producir anticuerpos IgG de una subclase u otra es, cuando menos en parte, un carácter hereditario. La IgG2 se transfiere con menor eficacia que las otras, pero se desconoce el significado biológico de esta desigualdad. La IgG4 carece por completo de la propiedad de fijar el complemento por la vía clásica, la cual requiere fijación de una proteína llamada C1q; sin embargo, esta inmunoglobulina puede ser activada en la vía alterna.

Los macrófagos y algunos otros tipos celulares expresan receptores de superficie que fijan las regiones Fc de las moléculas de IgG. Estas interactúan principalmente con el dominio CH2, y enlazan IgG1 e IgG3 con una afinidad mucho mayor que las otras subclases.

**Enfermedad hemolítica del recién nacido:** anticuerpos contra antígenos de grupo sanguíneo muestran un perfil de subclase de IgG distintivo. La influencia de determinadas subclases de IgG anti-Rh (D) en relación con la severidad de la enfermedad, ha sido investigada por diferentes grupos de trabajo. 42-45 En la mayoría de las muestras estudiadas se detecta IgG1 e IgG3, expresándose con más severidad la enfermedad hemolítica que cuando se demuestra IgG1 solamente. Anticuerpos contra grupos sanguíneos de la subclase IgG4, en contraste con aquellos de las subclases IgG1, IgG2 e IgG3, no producen hemólisis, debido a la incapacidad de estos de activar el sistema complemento. La determinación de subclases de IgG debe realizarse cuando exista una discrepancia entre los hallazgos serológicos y signos de un aumento de destrucción de eritrocitos *in vivo*.<sup>6</sup>

## IgM:



Figura 7:

<http://www.google.com/search?q=Imágenes+inmunoglobulinas.com.ec>

La IgM representa 5 a 10% del total de la inmunoglobulina sérica, con una concentración sérica promedio de 1.5mg/ml. La IgM manométrica, con un peso molecular de 180.000, se expresa como un anticuerpo unido a membrana de células B. las células plasmáticas secretan la IgM en la forma de un pentámero en el cual se conservan unidas entre sí 5 unidades de monómeros por enlace disulfuro que unen sus dominios de cadena pesada carboxilo terminal.

La IgM es la primera clase de inmunoglobulina que se produce en una respuesta primaria a un antígeno y también es la primera inmunoglobulina que sintetiza el recién nacido. La IgM también es más eficiente que la IgG para la activación del complemento. En virtud de su gran tamaño, la IgM no se difunde bien y por tanto se encuentra en concentraciones muy bajas en los líquidos intracelulares de los tejidos.

## IgA:

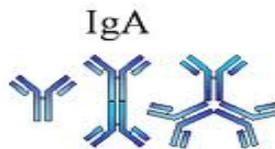


Figura 8:

<http://www.google.com/search?q=Imágenes+inmunoglobulinas.com.ec>

Inhibe la adherencia de los microorganismos a la superficie de las células de las mucosas, por lo que es una primera línea de defensa frente a las infecciones. Pese a que la IgA solo constituye 10 a 15 % del total de las inmunoglobulinas que predomina en secreciones externas, como leche materna, saliva, lágrimas y moco de las vías bronquiales, genitourinarias y digestivas. La producción diaria IgA secretoria es mayor que la de cualquier otra clase de inmunoglobulinas.

Las células plasmáticas que producen IgA migran de manera preferencial a tejidos sub epiteliales y se alojan en ellos, en donde la IgA secretada se une de forma estrecha a un receptor para moléculas de inmunoglobulina poliméricas. La IgA secretoria tiene una función efectora relevante en las superficies mucosas, que son los principales sitios de entrada de la mayor parte de los microorganismos patógenos.

La unión de la IgA secretoria a antígenos de superficie bacterianos y virales les impide la fijación de los patógenos a las células mucosas e inhibe, en consecuencia, las infecciones virales y la formación de colonias bacterianas.

La leche materna contiene IgA secretoria y muchas otras moléculas que ayudan a proteger al recién nacido contra infecciones durante el primer mes de vida. Debido a que el sistema inmunitario de los lactantes no funciona a plenitud, la lactancia materna tiene un papel esencial en la conservación de la salud de los recién nacidos.



Los anticuerpos de IgE median las reacciones de hipersensibilidad inmediata que causan los síntomas como fiebre del heno, asma, urticaria y choque anafiláctico. La IgE se une a receptores Fc en las membranas de basófilos sanguíneos y células cebadas de los tejidos. El enlace cruzado por antígenos (alérgeno) de moléculas de IgE unidas al receptor induce a los basófilos y las células cebadas a llevar sus gránulos a las membranas plasmáticas y liberar su contenido en un ambiente extracelular, un proceso que se conoce como desgranulación. Como resultado, se libera una diversidad de mediadores activos desde el punto de vista farmacológico y aparecen manifestaciones alérgicas.<sup>5</sup>

### Anticuerpos naturales

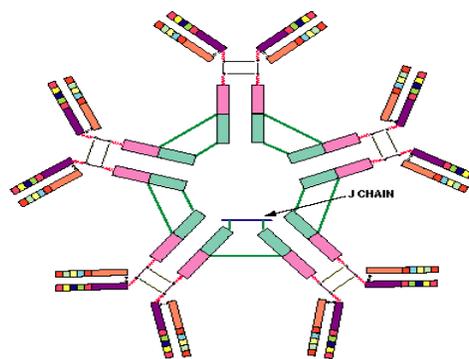


Figura 11:

<http://www.google.com/imagenes/inmunoglobulinaslgm.com.ec>

También conocidas como IgM, ocupan el 8% de las inmunoglobulinas totales, pesan 900.000 uD. Estas no atraviesan barrera placentaria, activa el complemento mediante la reacción antígeno – anticuerpo, y su vida promedio es de 10 días.<sup>4</sup>

Se dice que un anticuerpo es natural cuando se encuentra en el suero de un sujeto que no ha entrado en contacto con el antígeno a través de una transfusión o de una gestación. Es probable que estos anticuerpos sean hetero aglutininas

producidas en respuesta a sustancias del ambiente similar a los antígenos eritrocitarios. La mayor parte de los anticuerpos naturales son IgM, pero algunos tienen un componente IgG y unos pocos son predominantemente IgG. Los aloanticuerpos naturales aparecen sobre todo en relación con los antígenos de los sistemas ABO, Lewis y P. que son carbohidratos.

Los antígenos formados por carbohidratos, sobre todo aquellos con epítomos que se repiten, pueden estimular la síntesis de anticuerpos específicos por las células B sin la ayuda de las células T cooperadoras.<sup>7</sup>

### Anticuerpos irregulares

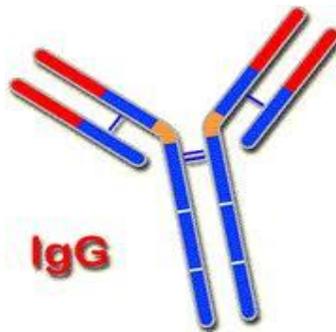


Figura 12:

<http://www.google.com/imagenes/inmunoglobulinas/IgG.com.ec>

También conocidas como IgG, ocupan un 73% de las inmunoglobulinas totales, pesan 150.000 uD atraviesan barrera placentaria asociándose con la enfermedad hemolítica del recién nacido, su vida promedio es de 60 a 70 días. Los anticuerpos inmunes de grupos sanguíneos suelen ser IgG y se producen en presencia de antígenos eritrocitarios extraños. Este evento puede tener lugar como consecuencia de una transfusión de sangre o en el caso de la embarazada, por pasaje de sangre fetal a la circulación materna.

Los anticuerpos inmunes aparecen tras la exposición a antígenos extraños eritrocitarios a causa de una gestación o transfusión la respuesta inmune primaria se observa de varias semanas a varios meses tras el primer contacto con el antígeno.

La respuesta primaria precoz se asocia con IgM, pero no está claro si es la primera clase de inmunoglobulina fabricada. La IgG predomina pronto en la mayor parte de los sujetos, hecho característica de la respuesta inmune timo-dependiente, en la cual las células T cooperadoras inducen a las B a cambiar su isotipo de IgM a IgG.

En la respuesta anamnésica o secundaria la concentración de anticuerpos empieza a subir de días a semanas tras la exposición y se pueden alcanzar niveles muy altos de IgG. Algunos anticuerpos IgG se pueden detectar todavía hasta 30 años tras el estímulo. Otros como los anticuerpos Kidd, desaparecen tras varios meses y se asocian con reacciones hemolíticas post-transfusionales retardadas.

Es más frecuente detectar anticuerpos inmunes en sujetos poli transfundidos que en mujeres multíparas, ya que en la gestación, la cantidad de hematíes que puede inmunizar es pequeña y los antígenos extraños se limitan a los del padre. Los anticuerpos inmunes son casi siempre IgG pero puede ser IgM y a veces IgA. La mayor parte de los anticuerpos inmunes reaccionan a la temperatura del organismo y se consideran con significado clínico.<sup>7</sup>

## RESPUESTA INMUNE

Es la forma en que el cuerpo reconoce y se defiende a sí mismo contra los microorganismos, virus y sustancias reconocidas como extrañas y que son potencialmente perjudiciales para el organismo.

Es la actuación integrada de un gran número de mecanismos heterogéneos de defensa contra sustancias y agentes extraños. Distinguimos dos tipos de respuesta: la innata o inespecífica, y la adaptativa o específica.

**Respuesta innata o inespecífica:** esta respuesta innata o inespecífica viene determinada por la primera línea de defensa del organismo:

- Las barreras físicas que suponen la piel intacta y las membranas mucosas.
- Ciertos factores fisiológicos como: el ácido clorhídrico en la cavidad estomacal, el epitelio ciliado del tracto respiratorio, las grandes cantidades de ácidos grasos no saturados en la piel, sudor, lágrimas y flora natural.
- Las células fagocíticas del sistema retículo-endotelial, capaces de englobar y destruir organismos que han penetrado en el organismo
- La reacción inflamatoria del organismo a la lesión o injuria que se caracteriza por: aumento del suministro de sangre al área afecta, aumento de la permeabilidad capilar, y la migración leucocitaria al tejido circundante a la lesión; todo ello provoca los síntomas del pro-ceso inflamatorio: hinchazón, calor, dolor y rubor.

- La capa epitelial puede producir péptidos dotados de una función antibiótica natural, así como existen linfocitos intraepiteliales que son un nexo de unión con la inmunidad adaptativa.
- Otros componentes celulares son los neutrófilos (fagocitan y destruyen microorganismos), los macrófagos (igual que los neutrófilos y secretan citosinas que estimulan la inflamación y presentan antígeno para activar la respuesta adaptativa) y las células NK (lisis de células infectadas y activación de macrófagos).
- Proteínas efectoras circulantes: Complemento (destrucción de microorganismos, opsonización, activación de leucocitos), Lectinas (activación del complemento), factores de coagulación (aislamiento de los tejidos infectados).
- Citocinas: TNF, IL-1 (inflamación e inducción de fiebre), IFN $\alpha$ , IFN $\beta$  (resistencia a infecciones virales), IFN $\gamma$  (activación leucocitos), IL-10, TGF $\beta$  (control de la inflamación).

**Respuesta adaptativa o específica:** la respuesta inmunitaria adaptativa o específica viene determinada por la especificidad, el reconocimiento, la memoria, y la reacción específica:

- Presenta la habilidad de reconocer lo propio y lo extraño.
- La exposición a sustancias o materiales no propios y por lo tanto extraños, provoca la generación de anticuerpos (inmunidad humoral) y la activación celular de los linfocitos T (inmunidad celular).
- Existe un alto grado de interacción entre ambos sistemas (humoral y celular).

- En inmunohematología, tiene un mayor interés y relevancia las causas y los efectos de la inmunidad humoral.

Presenta las siguientes características:

- Especificidad: antígenos distintos estimulan respuestas específicas distintas.
- Diversidad: respuesta frente a una gran variedad de antígenos.
- Memoria: exposiciones repetidas del mismo antígeno producen respuestas aumentadas.
- Especialización: se producen respuestas óptimas frente a diferentes tipos de antígenos.
- Autolimitación: se regula el sistema inmunitario, llevándolo a un estado de reposo después de eliminado el antígeno (homeostasis).
- Ausencia de autorreactividad: se impide la lesión del huésped durante la respuesta a los antígenos.

### **Regulación de la respuesta inmune**

La respuesta inmune tiene unos mecanismos muy complejos de regulación, pero si estos fallan, se pueden producir una serie de alteraciones muy diversas que oscilan entre: un exceso de respuesta, que puede producir un proceso inflamatorio llamado hipersensibilidad, una deficiente regulación de lo que son antígenos propios y extraños, que puede conducir a un proceso de autoinmunidad, y un defecto de activación de la vigilancia inmunológica, que puede conducir a un

déficit inmunitario caracterizado por la infección por gérmenes, aparición de tumores, etc.

En medicina transfusional, tienen interés sobre todo las dos primeras, y en especial las denominadas reacciones de hipersensibilidad, ya que diversas reacciones transfusionales se producen mediante un mecanismo de hipersensibilidad. Las reacciones de hipersensibilidad se producen por una respuesta inmune excesiva frente a sustancias normalmente no infecciosas denominadas alérgenos.

En todos los casos de hipersensibilidad, el primer contacto con el alérgeno no origina ningún tipo de reacción importante, pero se sensibilizan las células de memoria para producir la sintomatología clínica tras una segunda exposición. Según los componentes del sistema inmune que inician la respuesta y si ésta se produce de una forma inmediata o de una forma "retardada", se pueden distinguir cuatro tipos distintos de reacciones de hipersensibilidad, siendo las dos primeras las que tienen más relevancia en medicina transfusional:

- **Hipersensibilidad de tipo I:** es el caso más conocido de alergia (polen, penicilina, picaduras de insecto, alergias alimentarias). Se produce una respuesta de tipo IgE, que se une a los receptores Fc de los mastocitos, sensibilizándolos. Una segunda exposición al antígeno activa a estas células liberándose mediadores fisiológicos como histaminas, leucotrienos, heparina, etc. Se produce contracción del músculo liso, vasodilatación, secreción de moco (anafilaxia). La reacción puede ser sistémica, provocando graves trastornos (shock circulatorio, muerte: penicilina, picaduras de insectos en casos extremos) o localizada (fiebre del heno:

polen, ácaros del polvo doméstico; alergias alimentarias con los típicos "habones").

- **Hipersensibilidad de tipo II:** es el caso donde el alérgeno es o se une a una célula (reacción tras recibir una transfusión de sangre de diferente grupo). Recibe el nombre de reacción citotóxica o citolítica, y está mediada por IgG o IgM que, tras unirse a la superficie celular, activan las rutas del complemento.
- **Hipersensibilidad de tipo III:** implica la formación de inmuno complejos (por IgG) que no son eliminados de forma normal, acaban acumulándose y produciendo daños en los vasos sanguíneos, riñón y/o articulaciones.
- **Hipersensibilidad de tipo IV:** también se denomina hipersensibilidad de tipo retardada por ser más lenta que las demás (hasta varios días). Está mediada por Linfocitos Th1. Se produce una activación específica de estos linfocitos que conduce a un proceso de inflamación y daño tisular considerable.

En la **respuesta primaria** primero se produce IgM, y luego IgG, siendo en ella la contribución global de la IgM más importante.

La respuesta inmune primaria a la mayoría de los antígenos se caracteriza por:

- Presentar un periodo de latencia prolongado (días), en el cual los anticuerpos no son generalmente detectados en el suero sanguíneo.
- El título de anticuerpos que se produce no es muy elevado y su duración es corta.
- La IgM es la primera inmunoglobulina que aparece y a un título más elevado que la IgG.

- La concentración de IgM declina más rápidamente que la concentración de IgG.
- Se forma células de memoria que se diferencian parcialmente y que explican las características de la respuesta secundaria.

En cambio, en la **respuesta secundaria** se produce mucha mayor cantidad de IgG que de IgM. La respuesta secundaria posee una serie de importantes diferencias cualitativas y cuantitativas con respecto a la respuesta primaria.

La respuesta inmune secundaria se caracteriza por:

- Presentar un periodo de latencia más corto que en la respuesta primaria.
- El título de anticuerpos que se alcanza es mucho mayor y permanecen en el suero sanguíneo durante un periodo más prolongado.
- Aparece la IgG a un título más elevado que la IgM.
- La concentración de IgG declina hasta un límite, que puede durar toda la vida.
- Las células de memoria formadas y diferenciadas parcialmente en la respuesta primaria alcanzan más rápido el estadio de las células productoras de anticuerpos, y por ello hacen que el tiempo de latencia sea más corto y la concentración de los mismos más elevada.

## SISTEMA DE COMPLEMENTO

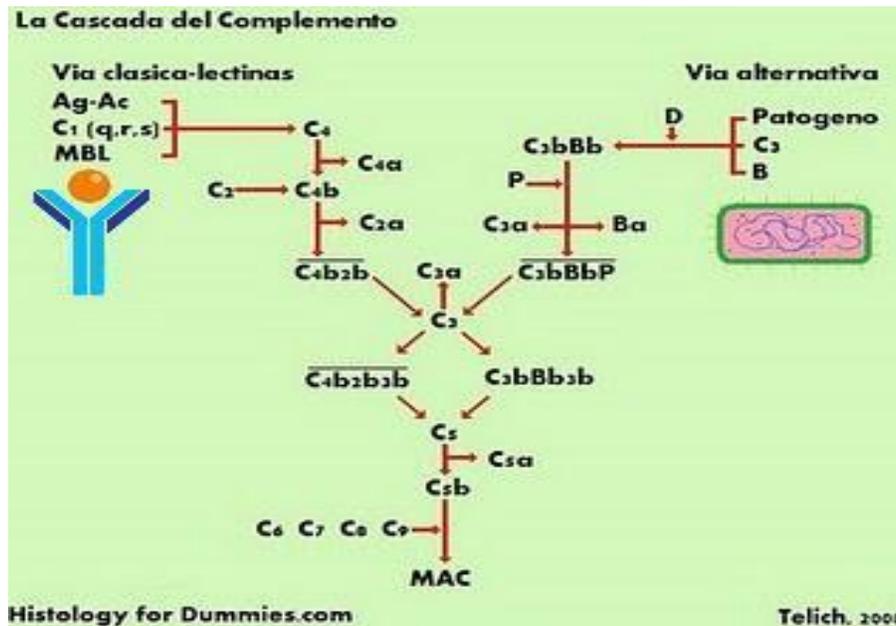


Figura 13:  
<http://www.google.es/imgres?q=vias+del+complemento&num=10&um=el-complemento.ec>

El sistema de complemento está constituido por moléculas implicadas principalmente en la defensa frente a infecciones y células tumorales. Parte de los factores del complemento potencian la inflamación y la fagocitosis y actúan produciendo la lisis de células y microorganismos. El complemento es especialmente importante frente a gérmenes gram negativos que pueden ser directamente lisados por anticuerpos y complemento.<sup>12</sup>

La mayor parte de los factores del complemento son proteínas plasmáticas y una pequeña proporción de ellos son proteínas de membrana. Es un sistema de defensa y limpieza constituido por una serie de proteínas solubles transportadas por la sangre. Cuando se activan estas proteínas se solidifican y se adhieren a la superficie de las células, gérmenes o moléculas para ser destruidas. Su acción

puede ser nociva cuando su activación se da de forma espontánea, necesaria y por tiempos prolongados a esto se le llama procesos autoinmunes.<sup>4</sup>

Complemento es un término global que describe un sistema de unas 20 proteínas, muchas de las cuales son precursoras enzimáticas. Los principales actores en este sistema son 11 proteínas denominadas C1 a C9, B y D. todas ellas están presentes normalmente entre las proteínas plasmáticas del cuerpo así como entre las proteínas que salen de los capilares hacia los espacios tisulares. Los precursores enzimáticos están normalmente inactivos, pero pueden activarse sobre todo mediante la conocida como vía clásica.<sup>2</sup>

## **Estructura**

En conjunto está integrado por 30 proteínas: 13 encargadas al circuito de activación, 7 al sistema de control y 10 sirven de receptores a las moléculas originadas durante el proceso de activación. En conclusión el complemento constituye más del 10% de las proteínas plasmáticas lo cual indica su importancia.<sup>1</sup>

Muchos de los componentes del complemento (C2, C3, C4, C6, C7, C8, Factor B y Factor I) son polimórficos, es decir que existen diferentes formas alélicas que se expresan con distintas frecuencias en poblaciones o razas. Los componentes del complemento se designan con numerales (C1-C9), letras (ej., factor D) o nombres comunes (como factor de restricción homólogo). Los fragmentos peptídicos que se forman por activación de un componente se indican con letras pequeñas. En la mayor parte de los casos, los fragmentos más pequeños que resultan de la segmentación de un componente se designan “a” y el fragmento mas grande “b” (eje., C3a, C3b: cabe señalar que C es una excepción: C2a es el fragmento de

segmentación más grande). Los fragmentos más grandes se unen al blanco cerca del sitio de activación y los más pequeños se difunden desde el sitio y pueden precipitar reacciones inflamatorias localizadas por unión a receptores específicos.

Los fragmentos del complemento interactúan entre sí para formar complejos funcionales. Los complejos que tienen actividad enzimática se designan con una línea sobre el número o signo (ej., C4b2a, C3bbb).<sup>9</sup>

## **Funciones**

Este sistema complejo, del que en la actualidad se conocen más de 25 proteínas, actúa al menos en 4 vías principales.

- La primera función, y la conocida del sistema, es originar lisis de células, bacterias y virus recubiertos.
- La segunda es mediar el proceso de opsonización en el cual células ajenas, bacterias, virus, hongos, etc. Se preparan para fagocitosis. Este proceso incluye recubrir la partícula extraña con fragmentos específicos del complemento que pueden reconocerse por receptores para estos fragmentos sobre las células fagocíticas.
- La tercera función de las proteínas de complemento es la generación de fragmentos peptídicos que regulan las características de la respuesta inflamatoria e inmunitaria. Estas proteínas tienen una función principal en la vasodilatación en el sitio de inflamación, adherencia de los fagocitos al endotelio del vaso sanguíneo y salida del fagocito del vaso, la emigración dirigida de las células fagocíticas hacia áreas de inflamación y, al final, la eliminación de agentes infecciosos del cuerpo.
- La cuarta función del complemento es ayudar a regular la actividad biológica de las células. La fijación del complemento a las células puede

causar su activación e incluso su división. La fijación del complemento a antígenos puede facilitar su fijación a los receptores localizados en las células presentadoras de antígenos, confiriéndoles así a un mas “capacidad antigénica”<sup>6</sup>

## Vías del complemento

### Vía Clásica:

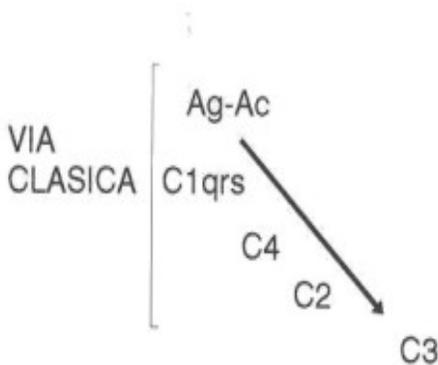


Figura 14:

<http://www.google.es/imgres?q=via+clasica+del+complemento&num.ec>

Se inicia por el complejo Ac-Ag, pues al formarse se descubre un lugar reactivo en el fragmento Fc del Ac que activa al componente C1qrs del complemento. Por la proteína C Reactiva (PCr) (formada en el hígado como respuesta a una infección o lesión de los tejidos) que se une en presencia de Ca<sup>++</sup> a la membrana de microorganismos, formando un complejo que activa el sistema del complemento.

La vía clásica la inicia una reacción antígeno anticuerpo. Es decir, cuando un anticuerpo se une a un antígeno, una zona reactiva específica de la porción constante del anticuerpo queda descubierta, o activada y se une directamente a la

molécula C1 de sistema de complemento, lo que establece una cascada de reacciones secuenciales que comienza con la activación de la pro enzima C1.

Las enzimas C1 que se forman activan entonces sucesivamente cantidades crecientes de enzimas en los últimos estadios de este sistema, de manera que desde el principio se produce una reacción extremadamente amplificada. Se forman múltiples productos finales, y varios de ellos causan importantes defectos que ayudan a evitar la lesión de los tejidos tisulares causada por microorganismos o toxinas invasoras.

Entre sus efectos más importantes están:

1. Oponización y fagocitosis: uno de los productos de la cascada del complemento, C3b, activa con fuerza la fagocitosis de los neutrófilos y los macrófagos, haciendo que estas células engullan las bacterias a las que se han unido los complejos antígeno anticuerpo. Este proceso se llama oponización .A menudo potencia el número de bacterias que puede destruirse varios cientos de veces.
2. Lisis: uno de los productos más importantes de la cascada del complemento es el conjunto lítico, que es una combinación de múltiples factores del complemento y se llama C5b6789. Tiene un efecto directo de rotura de las membranas celulares de las bacterias y otros microorganismos invasores.
3. Aglutinación: los productos del complemento también cambian las superficies de los microorganismos invasores, haciendo que se adhieran entre sí, lo que favorece la aglutinación.
4. Neutralización de los virus: las enzimas del complemento y otros productos del complemento pueden atacar estructuras de algunos virus y hacerles perder la virulencia.

5. Quimiotaxis: el fragmento C5a inicia la quimiotaxis de los neutrófilos y de los macrófagos haciendo que un gran número de estos fagocitos migre hacia la zona del tejido adyacente al antígeno.
6. Activación de mastocitos y basófilos: los fragmentos C3a, C4a, y C5a activan los mastocitos y a los basófilos haciéndoles liberar histamina, heparina y otras sustancias a los líquidos locales. Estas sustancias aumentan a su vez el flujo sanguíneo local, aumentando la fuga de líquido y proteínas plasmáticas del tejido, y otras reacciones tisulares locales que ayudan a inactivar o inmovilizar el antígeno. Los factores que intervienen de forma importante en la inflamación y en la alergia.
7. Efectos inflamatorios: además de los efectos inflamatorios debido a la activación de los mastocitos y los basófilos, otros productos del complemento contribuyen a la inflamación local. Estos productos provocan que: el flujo sanguíneo ya aumentado se incremente todavía más; aumente la fuga capilar de proteínas, y las proteínas del líquido intersticial se coagulen en los espacios tisulares, lo que impide el movimiento del microorganismo invasor a través de los tejidos.<sup>2</sup>

### Vía Alternativa:

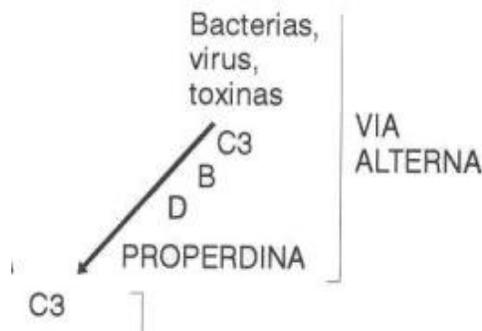


Figura 15:

<http://www.google.es/imgres?q=via+clasica+del+complemento&num=.ec>

Activada por polisacáridos de la membrana celular de microorganismos. Es un circuito cíclico de amplificación de la señal. Esta vía es más antigua –desde el punto de vista evolutivo- que la clásica, diferenciándose además de ésta en que la vía alternativa no necesita anticuerpos para activarse, por lo que es un mecanismo de defensa importante en los estadios iniciales de la infección cuando todavía no se han sintetizado cantidades importantes de anticuerpos. Funciona de forma continua a un bajo nivel y solo en presencia de determinados factores se amplifica.

El C3 no solo actúa como un componente fundamental de la vía clásica, sino que también constituye el componente clave de la vía alterna del complemento. Esta vía, que tiene gran relevancia en el sistema inmunitario innato, representa otro medio adicional para la activación de la cascada del complemento, en este caso en ausencia de anticuerpos. La molécula C3 circulante en plasma sufre hidrólisis espontánea de su unión tioéster, generando una especie con una conformación alterna llamada C3 (H<sub>2</sub>O) conforme el agua penetra lentamente el grupo tioéster, C3 (H<sub>2</sub>O) actúa como C3b. en presencia de iones de magnesio, C3 (H<sub>2</sub>O) puede unirse a la proteína tipo C2, factor B, e interactuar con la proteína tipo C1, factor D, y así producir la enzima convertasa de la vía alterna que lisa C3, justo de la misma forma como la convertasa clásica lisa C3.

Así, en condiciones fisiológicas normales, C3 en el plasma sufre una hidrólisis lenta, interactúa con las proteínas de la vía alterna y lisa C3 para formar C3a y C3b. mecanismos estrictos de control operan para limitar la amplitud de la reacción y, de tal manera, evitar la activación masiva del complemento y los daños en la células del huésped. No obstante, si estas reacciones se originan cerca d una partícula extraña, algunos fragmentos de C3b pueden unirse de modo covalente a su superficie.

El factor B puede activarse por el factor D formando el complejo (C3bBb) la vía alterna C3 convertasa. A su vez, la convertasa C3 puede unir y escindir una molécula adicional de C3 para formar un complejo más grande (denominado C3bBbC3b) que tiene actividad de convertasa a C5. El último complejo puede después desencadenar de modo efectivo los pasos subsecuentes en la cascada del complemento, y así promueve el ataque sobre la partícula a la cual se une.

La convertasa C3 (C3bBb) de la vía alterna es muy inestable y, por lo regular, se disocia con rapidez. No obstante, en la sangre una proteína llamada properdina se une a esta convertasa y la estabiliza, para disminuir así su degradación y permitir que continúe la cascada del complemento.

#### Vía Lítica:

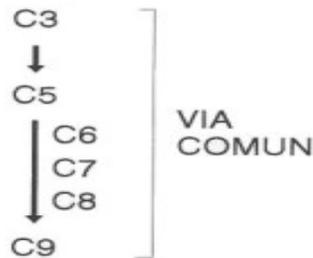


Figura 16:

<http://www.google.es/imgres?q=via+clasica+del+complemento&num=1.ec>

Formación del complejo de ataque a la membrana, las enzimas convertasas de C5 (C4b2a3b y C3bBb3b) formadas ya sea en la vía clásica o en la alternativa. El C5a se libera y ocasiona efectos biológicos que se describen en una sección después. El C5b continúa la secuencia lítica; sin embargo, no forma ni un covalente con la superficie de su blanco.

El C5b se inactiva con rapidez a menos que se estabilice por unión al siguiente componente en la cascada, el C6. El complejo C5b6 puede enlazar ahora a C7, tercera proteína implicada en el ataque a la membrana. El complejo C5b67 es muy hidrofóbico e interactúa con los lípidos cercanos a las membranas. Tiene la propiedad de insertarse en la doble capa lipídica de las membranas celulares. En dicha localización, un complejo C5b67 puede aceptar una molécula de C8 y múltiples moléculas de C9, para formar finalmente un canal cilíndrico transmembranal, C5b678 (9)<sub>n</sub>, denominado complejo de ataque a la membrana.

Esta estructura tiene una superficie externa hidrofóbica la cual se asocia con el lípido de membrana de la bicapa, y un centro hidrofílico a través del cual pueden pasar pequeños iones y agua. El líquido extracelular se comunica entonces con el fluido interno de la célula, de manera que una vez insertado el complejo en la membrana, la célula no puede mantener su equilibrio osmótico y químico. Entre el agua y la célula debido a la gran presión osmótica interna, y la célula se hincha y explota. Parece ser que el ensamble de C5b-C8 forma un pequeño canal en la membrana que se incrementa cada vez más y se estabiliza por la unión de múltiples moléculas de C9. Uno de tales canales que penetra a la membrana eritrocítica es suficiente para destruir la célula. Las células con estructura metabólicas más complejas, hasta cierto grado pueden internalizar y destruir complejos del complemento que se formen en la superficie celular o dispersarlos como vesículas a partir de la superficie celular y de este modo proporcionar cierta protección contra el ataque del complemento.<sup>12</sup>

## **REACCIONES DE HEMAGLUTINACIÓN**

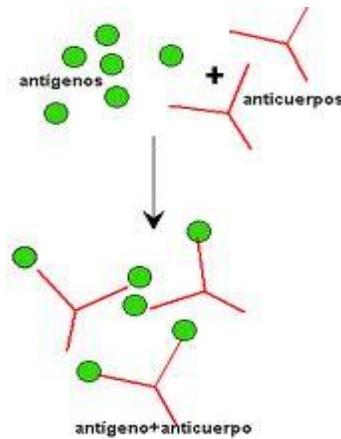


Figura 17:

<http://www.google.es/imgres?q=reaccion+de+hemaglutinacion&num=10&hl=es&gbv.ec>

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

La reacción in vitro es de particular importancia porque ella permite que tanto los antígenos como los anticuerpos pueden ser destacados y estudiados en el laboratorio mediante pruebas específicas. La mayoría de técnicas empleadas en el banco de sangre para detectar las reacciones entre antígenos y anticuerpos, se basan en la aglutinación y en ocasiones, la lisis de los glóbulos rojos (hemólisis).

Aglutinación, consiste en el agrupamiento de la suspensión de partículas que se debe a la reacción entre un antígeno presente en las partículas (aglutinógeno) y un anticuerpo específico (aglutinina). Las partículas pueden ser vitales (hematíes y bacterias) o inertes (carbón vegetal, látex = polímero de polietileno, bentonita = arcilla y gelatina). Si la partícula utilizada en la aglutinación es un hematíe se lo denomina reacción de hemaglutinación.<sup>4</sup>

## Aglutinación

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

Esta técnica puede ser:

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

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

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

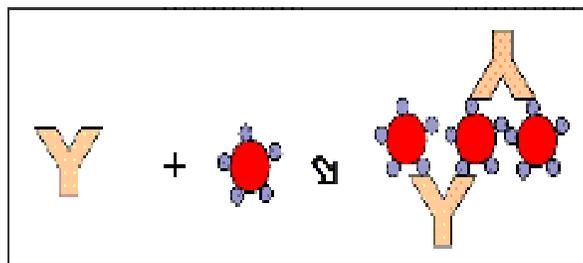


Figura 18:

[http://epidemiologiamolecular.com/15/11/2010/reacciones-de-hemaglutinacion-y-lisis/#\\_Toc255664421](http://epidemiologiamolecular.com/15/11/2010/reacciones-de-hemaglutinacion-y-lisis/#_Toc255664421)

## **Inhibición de la hemaglutinación**

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

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

Esta técnica se usa para diagnosticar microorganismos que por sí solos son capaces de aglutinar glóbulos rojos, como el virus de la rubéola. Sí en el suero del enfermo hay Ac contra el virus de la rubéola, se produce un bloqueo de los virus y se inhibe la aglutinación. La ausencia de aglutinación se interpreta como POSITIVO, porque hay Ac contra el virus de la rubéola.<sup>14</sup>

## **MEDIOS DE REACCIÓN QUE FAVORECEN LA REACCIÓN ANTÍGENO – ANTICUERPO**

**Solución albumina bovina:** se emplea como medio proteico destinado a potenciar, determinados anticuerpos de grupos sanguíneos. La materia prima es la albumina obtenida por fraccionamiento del plasma bovino, según métodos industriales bien estandarizados (fraccionamiento salino, alcohólico, métodos cromatográficos).

Parámetros muy importantes en la preparación del soluciones de albumina bovina son el pH, la concentración. Las solucione de albumina bovina disminuye el

potencial z y, en consecuencia la repulsión electrostática existente entre los hematíes, las concentraciones más empleadas: 30%, 22%, 6%, 3%. El tiempo de incubación es de 30 min a 37 c.



Figura 19:

<http://www.google.es/imgres?q=Soluci%C3%B3n+albumina+bovina&start=20&num=10&.ec>

**Enzimas proteolíticas:** los anticuerpos de grupos sanguíneos de tipo IgG pueden aglutinar los hematíes si estos se tratan con soluciones tamponadas de algunas enzimas proteolíticas. Las enzimas que se usan corrientemente en inmunohematología son: tripsina, papaína y bromelina. La ofsinina tiene su aplicación limitada por ser toxica, aunque es la que produce mayor disminución del potencial z.

Las pruebas para la investigación de anticuerpos mediante enzimas proteolíticas son muy sensibles para determinados anticuerpos pero tienden a dar resultados falsos positivos. La desventaja de este medio de reacción es que destruye los antígenos eritrocitarios porque reduce altamente el potencial z, utiliza un tiempo de incubación de 5 min.

**Soluciones de baja fuerza iónica (liss):** la carga de iones positivos y negativos que poseen es inferior a la que contiene la solución salina fisiológica normal, por

ello, la interacción de los iones del medio dificulta menos las uniones antígeno – anticuerpo.

Este medio de reacción aumenta la velocidad de asociación y captación entre antígeno y anticuerpo. Para evitar el posible deterioro de algunos antígenos hemáticos debido al medio de baja de fuerza iónica, es preciso seguir muy estrictamente las instrucciones que proporcionan el fabricante de cada liss aditivo. Utiliza un tiempo de incubación de 15 min, investiga anticuerpos de tipo IgG e IgM.<sup>4</sup>



*Figura 20:*

<http://www.google.es/imgres?q=Soluciones+de+baja+fuerza+i%C3%B3nica+liss&hl=ec>

## **POTENCIAL Z**

El potencial Zeta puede ser disminuido por el aumento de la constante dieléctrica (D) mediante la adición de sustancias macromoleculares (albúmina bovina, etc.); por la disminución de las cargas negativas de los hematíes ( $\sigma$ ) mediante la acción de enzimas proteolíticas. Es decir, podremos lograr la disminución de la distancia entre los hematíes favoreciendo la sensibilización y aglutinación de los mismos.<sup>15</sup>

## 2.2.2. TEST DE COOMBS

El Fundamento de la Prueba de Coombs es que permite demostrar la presencia de anticuerpos incompletos mediante el uso de un segundo anticuerpo, que es una antiglobulina. La Prueba de Coombs directa se utiliza como método diagnóstico de enfermedades como las anemias hemolíticas, la enfermedad hemolítica del recién nacido y en las reacciones transfusionales. La Prueba de Coombs indirecta se usa para realizar tipificación de grupos sanguíneos, pruebas sanguíneas cruzadas y como método de rastreo para evitar reacciones transfusionales.

Es una prueba que busca anticuerpos que puedan fijarse a los glóbulos rojos y causar su destrucción prematura (hemólisis). Se denomina prueba de Coombs con sus modalidades directa o indirecta, al procedimiento que investiga un tipo de globulina gama denominada anticuerpos incompletos. Utilizando un antisuero conseguido en el conejo inmunizado frente a la globulina humana, dicho antisuero si se pone en contacto con el antígeno recubierto de los anticuerpos incompletos, provoca una aglutinación visible.

### CLASIFICACIÓN

En la prueba de coombs tenemos:

La prueba de **Coombs directa** que se emplea principalmente para demostrar la presencia de autoanticuerpos en anemias hemolíticas adquiridas y en la eritroblastosis fetal, para comprobar que los eritrocitos del recién nacido están recubiertos de anticuerpos anti Rh fabricados por la madre.

Consiste en enfrentar los hematíes del paciente al suero de coombs específico, para determinar si existen o no autoanticuerpos fijados en la membrana eritrocitaria. Su presencia se manifiesta por la aglutinación de los hematíes en el fondo del tubo.

En esta técnica es importante realizar el control del suero de coombs con hematíes previamente preparados, esto nos permitirá saber en qué condiciones se encuentra y si los resultados obtenidos son válidos.

Esta indica siempre que se sospeche que la causa de la hemólisis obedece a un mecanismo inmune: anemia hemolítica autoinmune, medicamentosa, enfermedad hemolítica del recién nacido o reacción hemolítica postransfusional.

Para el diagnóstico de la enfermedad es importante saber qué tipo de anticuerpo es el que se ha fijado a la membrana eritrocitaria IgG o IgM, o si la causa de la presencia de complemento. Por ello no se utiliza un suero antiglobulina de coombs polivalente, si no sueros específicos: anti – IgG y suero anti – C3 – C4.

Dado que los anticuerpos IgM actúan preferentemente en frío no se suele usar suero anti-IgM en esta técnica. Existen técnicas específicas para su determinación.<sup>3</sup>

**La Prueba de Coombs indirecta**, demuestra la presencia de los anticuerpos incompletos en el suero de la madre por la inmunización de factor Rh. Detecta anticuerpos hacia los glóbulos rojos en la circulación. Es importante para la determinación de la compatibilidad entre dador y el receptor en el caso de transfusiones de sangre. Detecta también la presencia de anticuerpos anti Rh en

la madre durante el embarazo. Evalúa la necesidad de administrar inmunoglobulina Rho (D). Ayuda a confirmar el diagnóstico de anemia hemolítica.

Es **clínicamente importante** en el diagnóstico de condiciones tales como anemias hemolíticas o reacción transfusional hemolítica tardía, estudio de hemólisis mediado por medicamentos, etc. La prueba más comúnmente utilizada, el test de Coombs directo, se utiliza para probar autoinmune anemia hemolítica. La prueba de Coombs indirecta se utiliza en las pruebas prenatales de las mujeres embarazadas, y en las pruebas de sangre antes de una transfusión de sangre.<sup>4</sup>

## **TÉCNICA PARA LA REALIZACIÓN DE COOMBS DIRECTO**

### **Prueba de coombs**

#### **Reactivos, suministros y equipos:**

- suero de coombs (poli específico o mono específico)
- hematíes sensibilizados
- tubos de 10 x 75, pipetas pasteur
- gradilla
- centrífuga
- lámpara de luz intensa
- magnificador

#### **Procedimiento**

1. adicionar una gota de hematíes del receptor o paciente. Se puede correr por duplicado.

2. Lavar 3 veces con solución salina fisiológica al 0,9%. Se centrifuga a 3500 rpm durante 1 minuto.
3. Se decanta todo. Se adiciona 1 a 2 gotas de solución salina, se resuspende el botón.
4. Agregar 2 gotas de anti globulina humana poli específico. Mezclar.
5. Centrifugar a 3500 rpm durante 15 segundos
6. Leer la graduación de las reacciones y anotar los resultados.
7. Los resultados negativos deben ser comprobados con la célula control de coombs para verificar la actividad del reactivo anti globulina. Adicionar 1 gota de hematíes control de coombs. Centrifugar a 3500 rpm durante 15 segundos. Resuspender y leer. La aglutinación de 2 cruces debe estar presente. Si es negativa, la prueba no es válida. Se deberá repetir el coombs directo.

## **TÉCNICA PARA LA DETERMINACIÓN DEL COOMBS INDIRECTO**

### **Técnica de pantallas 1 – 2**

#### **Reactivos, suministros y equipos:**

- Pantallas 1 y 2
- Suero o plasma del receptor o paciente
- Liss
- Suero de coombs C3d + IgG
- células control coombs.
- Tubos

- Lámpara de blanco
- Centrífuga.

### **Fase salina**

1. Identifique los tubos de ensayo correspondiente a los distintos hematíes reactivos de pantalla 1 y 2.
2. Añada a cada tubo una gota (50ul) de los hematíes reactivo correspondiente.
3. Añada a cada tubo 2 gotas (100ul) de suero o plasma que debe analizarse.
4. Mezcle cuidadosamente e incube durante 5 minutos a temperatura ambiente (18 a 25° C).
5. Centrifugue 20 segundos a 3500 rpm.
6. Resuspenda cuidadosamente los eritrocitos y realice una observación macroscópica sobre una lámpara de luz blanca comprobando si existe aglutinación o hemolisis.

### **Fase liss:**

7. Añada a cada tubo 2 gotas (100ul) de liss.
8. Agite suavemente e incube durante 15 minutos a 37° C.
9. Centrifugue 20 segundos a 3500 rpm.
10. Resuspenda cuidadosamente los eritrocitos y realice una observación macroscópica sobre una fuente de luz directa comprobando si existe aglutinación o hemolisis.

### **Fase (Coombs):**

11. Lave 3 veces al contenido de los tubos con solución salina isotónica y elimine al sobrenadante.
12. Añada a cada tubo 2 gotas (100ul) de "Coombs serum"
13. Mezclar suavemente y centrifugar durante 20 segundos a 3500 rpm.
14. Resuspenda cuidadosamente los eritrocitos y realice una observación macroscópica sobre una fuente de luz directa comprobando si existe aglutinación o hemólisis.
15. Confirme los resultados negativos con Coombs – control IgG

### **CÉLULAS CONTROL COOMBS**

Las células de Coombs control (también llamadas células Check) son requeridos por la AABB para ser utilizado como un sistema de control cuando pruebas de AHG son negativos. Las células de Coombs control (CC) son de fabricación comercial del grupo O+ células rojas humanas recubiertas con anticuerpos IgG. Se añaden a cualquier resultado negativo en la prueba AHG, se centrifuga y después se comprueba si hay aglutinación. El resultado debe ser positivo después de la adición de las células control de Coombs. Estas células "check" para asegurarse de que el procedimiento se ha realizado correctamente antes de añadir las células. Si las células de Coombs de control no hacen a su vez la reacción positiva, la prueba no es válida. Hay varias cosas que podría haber ocurrido: no fue introducido AHG en los tubos, las células fueron lavadas inadecuadamente, o el reactivo de AHG era "malo".

## **LAVADO Y SUSPENSIÓN**

1. Se centrifuga a 2.500 rpm durante 3 minutos.
2. Fraccionamos el concentrado de glóbulos rojos y el componente plasmático.
3. Procedemos a lavar el concentrado de glóbulos rojos 500ul mas solución salina isotónica al 0.9% hasta 1 cm antes de llenar el tubo.
4. Proceder a centrifugar a 3.500 rpm por 1 minuto (por fuerza de centrifugación se va a formar un botón.)
5. Decantar
6. El paso 4 y 5 se realiza por 3 veces.
7. Suspender 1 gota de células lavadas más 29 gotas de suero fisiológico isotónico. (relación 1/30).

## **DETERMINACIÓN ABO EN TUBO - DIRECTO**

### **REQUERIMIENTOS**

- Sueros comerciales: Anti-A, Anti-B, Anti-AB.
- GR al 5%
- Tubos 12x75 mm
- Solución salina
- Pipetas pasteur
- Lámpara
- Centrífuga

## **MUESTRA REQUERIDA**

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

## **PROCEDIMIENTO**

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. Resuspender suavemente el sedimento de los hematíes y examinar la aglutinación.
8. Anotar los resultados de las pruebas.

## **REPORTE DE LOS RESULTADOS:**

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

## **DETERMINACIÓN ABO EN TUBO - INVERSA**

### **MATERIALES**

- Tubos
- Suero reactivo o en estudio
- Células suspendidas del grupo A-B-O (aplicar técnica de lavado y suspensión de células).

### **MÉTODO**

1. Identificar tubos con las letras A-B-O.
2. Colocar 100ul o dos gotas de suero reactivo o en estudio.
3. Agregar una gota de las células A-B-O en cada tubo correspondiente (células A en el tubo rotulado con A, etc.).
4. Centrifugar 15-20 segundos a 3500 r.p.m.
5. Observar la aglutinación y la intensidad de los mismos valiéndose de una lámpara de luz blanca y/o magnificador.
6. Anotar los resultados.

### **REPORTE DE RESULTADOS:**

La aglutinación o hemolisis indica que un anticuerpo específico contra el antígeno A o B está presente en el suero problema y se considera un resultado positivo. Una suspensión uniforme de hematíes después de la resuspensión del botón es un resultado negativo.

## TIPIFICACIÓN RH D,C,E,c,e

Antes de aplicar la técnica la muestra de sangre debe ser lavada y suspendida.

### PROCEDIMIENTO

1. Rotular tubos con la letra D,C,E,c,e, es preciso a cada letra acompañarle del código numérico que se ha asignado.
2. Colocar una gota de antisuero Anti-D, una gota de Anti-C, Anti-E, Anti-c, Anti-e, en cada tubo limpio y rotulado respectivamente.
3. Colocar a cada tubo 50ul de las células lavadas y suspendidas.
4. Mezclar suavemente el contenido de los tubos y centrifugar 15 segundos a 3500 r.p.m.
5. Examinar los tubos en busca de hemólisis.
6. Resuspender suavemente el botón celular y examinar buscando aglutinación, oscilar el porta objetos hacia adelante y hacia atrás.
7. Anotar los resultados de la prueba.

### PREPARACION DEL PANEL DE CÉLULAS

1. Codificar un tubo de 12 x 75 mm con la letra **I** minúscula
2. Utilizar células conocidas **cdE** sin anticoagulante o con anticoagulante. Pueden utilizarse los segmentos de las unidades de sangre identificadas como cdE.
3. Colocar las células sanguíneas en el tubo y lavar tres o cuatro veces con solución salina al 0.9% y eliminar el sobrenadante con cuidado de no perder

células. Cada lavada debe ser de un minuto a velocidad de 3300 rpm. (El lavado permite eliminar las proteínas libres que podrían causar falsas aglutinaciones). La solución salina deberá cubrir las  $\frac{3}{4}$  de cada tubo, resuspender totalmente el botón celular antes de colocar la solución salina, evitar la cobertura con los dedos. El sobrenadante final eliminarlo por completo, puede ayudarse con un absorbedor.

4. Realizar una suspensión del 2 al 5% de las células lavadas en un volumen total de 5 ml de la siguiente manera:

<b>PORCENTAJE (%)</b>	<b>Células e (ul)</b>	<b>SOLUCIÓN SALINA (mL)</b>
<b>2</b>	100	4.900
<b>3</b>	150	4.850
<b>4</b>	200	4.800
<b>5</b>	250	4.750

5. Codificar el frasco donde se colocarán las células con solución salina como PANTALLAS I, fecha de elaboración, fecha de caducidad y lote.
6. Añadir 2 gotas de CDPA1 y otros con CPD + ADSOL en la suspensión (fecha de caducidad a los 21 días)

## **INSTRUCTIVO**

1. Codificar un tubo de 12 x 75 mm con la letra **ll** minúscula

2. Utilizar células conocidas **Cde** sin anticoagulante o con anticoagulante. Pueden utilizarse los segmentos de las unidades de sangre identificadas como Cde.
3. Colocar las células sanguíneas en el tubo y lavar tres o cuatro veces con solución salina al 0.9% y eliminar el sobrenadante con cuidado de no perder células. Cada lavada debe ser de un minuto a velocidad de 3300 rpm. (El lavado permite eliminar las proteínas libres que podrían causar falsas aglutinaciones). La solución salina deberá cubrir las  $\frac{3}{4}$  de cada tubo, resuspender totalmente el botón celular antes de colocar la solución salina, evitar la cobertura con los dedos. El sobrenadante final eliminarlo por completo, puede ayudarse con un absorbedor.
4. Realizar una suspensión del 2 al 5% de las células lavadas en un volumen total de 5 ml de la siguiente manera:

<b>PORCENTAJE (%)</b>	<b>Células e (ul)</b>	<b>SOLUCIÓN SALINA (mL)</b>
<b>2</b>	100	4.900
<b>3</b>	150	4.850
<b>4</b>	200	4.800
<b>5</b>	250	4.750

7. Codificar el frasco donde se colocaran las células con solución salina como PANTALLAS II, fecha de elaboración, fecha de caducidad y lote.
8. Añadir 2 gotas de CPDA1 y otros con CPD + ADSOL en la suspensión (fecha de caducidad a los 21 días)

## INSTRUCTIVO

1. Codificar un tubo de 12 x 75 mm con la letra **III**.
2. Utilizar células conocidas **CDE** sin anticoagulante o con anticoagulante. Pueden utilizarse los segmentos de las unidades de sangre identificadas como CDE.
3. Colocar las células sanguíneas en el tubo y lavar tres o cuatro veces con solución salina al 0.9% y eliminar el sobrenadante con cuidado de no perder células. Cada lavada debe ser de un minuto a velocidad de 3300 rpm. (El lavado permite eliminar las proteínas libres que podrían causar falsas aglutinaciones). La solución salina deberá cubrir las  $\frac{3}{4}$  de cada tubo, resuspender totalmente el botón celular antes de colocar la solución salina, evitar la cobertura con los dedos. El sobrenadante final eliminarlo por completo, puede ayudarse con un absorbedor.
4. Realizar una suspensión del 2 al 5% de las células lavadas en un volumen total de 5 ml de la siguiente manera:

<b>PORCENTAJE (%)</b>	<b>Células e (ul)</b>	<b>SOLUCIÓN SALINA (mL)</b>
<b>2</b>	100	4.900
<b>3</b>	150	4.850
<b>4</b>	200	4.800
<b>5</b>	250	4.750

5. Codificar el frasco donde se colocaran las células con solución salina como PANTALLAS III, fecha de elaboración, fecha de caducidad y lote.

6. Añadir 2 gotas de CPDA1 y otros con CPD + ADSOL en la suspensión (fecha de caducidad a los 21 días).<sup>4</sup>

## INTENSIDAD DE REACCIÓN DE ANTISUEROS

**Definición de la potencia de la reacción:** Cuando se leen los resultados es necesario contar con un sistema que diferencie la potencia de las reacciones; en general se utilizan puntajes. Por ejemplo:



INTENSIDAD DE LA REACCION DE HEMAGLUTINACIÓN

Fuente: Cortesía: Guía para la realización de pruebas Inmunohematológicas, Lic. Fernando Jaramillo G.

## Causas de error en la identificación del antígeno rh

### Posibles causas de falso positivo

- Adición del antisuero equivocado al tubo de prueba.
- Exceso de centrifugación de la mezcla suero/células.
- Material de vidrio sucio (lejía, detergente, silicona).
- Técnica de lectura inadecuada, agitación muy débil.

### **Posible causas de falso negativo**

- Omisión de las células del paciente o del donante.
- Omisión del antisuero al tubo de prueba.
- Baja centrifugación de la mezcla suero/células.
- Agitación vigorosa al momento de hacer la lectura.
- Deficiente lavado de las células

### **Posibles causas de falso positivo o falso negativo**

- Rotulado incorrecto de los tubos.
- Adición equivocada de un antisuero.
- Errores en la lectura o interpretación de resultados.
- Registro inexacto de los resultados.
- Contaminación de antisuero o células de prueba.
- Una inexacta relación suero/células en la mezcla de prueba

### **2.2.3. REACCIONES TRANSFUSIONALES**

Las **reacciones transfusionales** se pueden clasificar como inmunológicas y no inmunológicas. Muchas de las primeras son causadas por estimulación de los anticuerpos por parte de los antígenos presentes en la transfusión de glóbulos rojos, leucocitos, plaquetas o proteínas del plasma. Esa isoimmunización puede llevar a una reacción futura cuando dichos antígenos sean transfundidos

nuevamente al paciente. Entre las posibilidades se incluyen la hemólisis por incompatibilidad; las **reacciones** febriles o pulmonares causadas por antígenos en las plaquetas o los leucocitos; los fenómenos alérgicos o anafilácticos debidos a anticuerpos que reaccionan con antígenos solubles, generalmente del tipo de proteínas plasmáticas, y otras de menor importancia.<sup>23</sup>

El potencial riesgo que significa una transfusión y la gravedad de las reacciones transfusionales, hacen necesario profundizar en el tema, para una adecuada prevención, identificación rápida y el establecimiento inmediato de medidas terapéuticas adecuadas. Aproximadamente entre el 2 y 3% de los pacientes transfundidos pueden experimentar algún tipo de efecto adverso. Las reacciones mortales son raras y causadas casi siempre por incompatibilidad ABO y esta a su vez por errores administrativos, desde la toma de la muestra hasta la transfusión.

Se presenta reacciones inmediatas y tardías.

#### Reacciones inmediata

- Inmunes: hemolíticas agudas (incompatibilidad por ABO), no hemolíticas, reacción anafiláctica, edema agudo no cardiogénico, reacción febril no hemolítica, reacción alérgica urticariante.
- No inmunes: contaminación bacteriana, sobre carga circulatoria, físicas (congelación, calentamiento, catéter pequeño calibre), químicas (medicamentos, lactatos, dextrosas en vía de transfusión).

#### Reacciones tardía

- Inmunes: hemolíticas tardías, purpura post transfusional, enfermedad injerto huésped.
- No inmunes: infecciones de transmisión por transfusión (sida, hepatitis B, hepatitis C, enfermedad de chagas, paludismo, sífilis).<sup>1</sup>

## **Origen inmunológico:**

**Reacción transfusional hemolítica:** se produce la destrucción de los hematíes, por anticuerpos presentes en el receptor, siendo la causa más frecuente la incompatibilidad ABO, debida a errores de identificación en el desarrollo de la cadena transfusional.

**Reacción transfusional febril no hemolítica:** La causa más frecuente es la presencia de Citosinas en el producto transfundido, liberadas por los leucocitos y plaquetas principalmente durante el período de almacenamiento. También puede deberse a la presencia de anticuerpos anti leucocitarios en el plasma del receptor. Por lo que es indicada la leuco reducción.

**Reacciones transfusionales alérgicas:** Se producen por proteínas, fármacos, sustancias para las cuales el paciente es alérgico.

**Lesión pulmonar aguda asociada a Transfusión:** Corresponde a un edema pulmonar no cardiogénico, si bien es cierto, no hay una explicación definitiva, la hipótesis más aceptada es la “teoría de los dos eventos”, en la que se postula que estaría ocasionado por dos eventos independientes, el primero respondería a circunstancias clínicas del receptor, que provocarían daño endotelial pulmonar y el segundo vendría ocasionado por la infusión pasiva de anticuerpos o modificadores de la respuesta biológica, incluyendo lípidos activos, procedentes del donante.

**Aloinmunización con destrucción de plaquetas inmediata:** Se produce en pacientes con anticuerpos anti-HLA o antígenos plaquetarios específicos, por transfusiones o embarazos previos. Estos anticuerpos producen la destrucción de las plaquetas que contengan el antígeno correspondiente.

### **De origen no inmunológico**

#### **Contaminación bacteriana:**

La presencia de bacterias en los componentes sanguíneos, suelen deberse a la presencia de gérmenes en la zona de punción del donante, generalmente los gérmenes Gram positivos suelen ser los responsables de las sepsis producidas por los concentrados de hematíes, mientras que los cocos Gram positivos suelen ser responsables de las sepsis producidas por los concentrados de plaquetas. Cambios en la coloración de los concentrados de hematíes o la desaparición en los “remolinos” de los concentrados de plaquetas deben poner sobre aviso de riesgo de contaminación. Clínicamente, se caracteriza por fiebre alta, escalofríos, hipotensión y shock durante o después de la transfusión.

#### **Sobrecarga circulatoria:**

Existe el riesgo de provocar una sobrecarga circulatoria, cuando la velocidad de la transfusión supera a los 2 a 4 ml/kg/hora, sobre todo en pacientes con anemia crónica con volumen plasmático normal o aumentado y en pacientes con funciones cardíacas o renales comprometidas. Los síntomas y signos incluyen disnea, hipertensión, insuficiencia cardíaca congestiva.<sup>3</sup>

## CONTROL DE CALIDAD

### Control de calidad en el laboratorio de compatibilidad

El personal del área : médicos ,técnicos, tecnólogos , estudiantes, deberán usar ternos interior( lunes celeste, martes verde , miércoles plomo, jueves verde , viernes opcional) y mandil blanco cerrado y con puño a nivel de mangas, guantes, gafas , protectores de mangas (opcional);el personal de limpieza deberá usar mandil azul grueso cerrado y preferible doble guante de látex , calzado solo para el uso de banco de sangre adicionalmente, el personal del área y estudiantes , guantes desechables, además de gafas protectoras y mascarilla, si el caso lo amerita(para prevenir contacto con salpicadura).

En el área de trabajo no deben consumir bebidas ni alimentos, no se debe fumar ni guardar alimentos en los muebles, refrigerantes o congeladores del laboratorio, ni maquillarse. Si deben ingresar visitantes al laboratorio, estos deberán usar un mandil desechable destinado para el efecto. En el laboratorio existirán siempre dos basureros, uno recubierto con bolsa negra para desechos comunes y otro con bolsa roja para desechos contaminados con sangre con un rotulo de biopeligroso.

Las agujas de jeringuillas, capilares, tubos de vidrio roto placas de vidrio, palillos, aplicadores, agujas peri craneales, los mismos que deberán ser llenados hasta las  $\frac{3}{4}$  partes para luego ser llenados de hipoclorito de sodio al 10% y un rotulo explicativo.

El material de cristal reutilizable en el laboratorio será colocado en recipientes plásticos de boca ancha conteniendo agua con detergente liquido, los cuales deben llenarse hasta las  $\frac{3}{4}$  partes , luego se pondrá hipoclorito de sodio al 10% por unos 20 minutos antes de proceder a su lavado.<sup>20</sup>

Los segmentos de mangueras de las bolsas de extracción de sangre, usados para las pruebas de compatibilidad deberán ser puestas en recipientes de boca ancha los cuales deben llenarse hasta las  $\frac{3}{4}$  partes, luego serán cubiertas con hipoclorito de sodio al 10% mínimo 20 minutos, luego se sellaran herméticamente y se llevaran al acopio final.

Estos segmentos serán desechados una vez cumplidos los 7 días requeridos para investigación de reacciones transfusionales en el receptor. Si ocurre un derrame de sangre, plasma o suero en las mesas de trabajo o en el suelo, se procederá de la siguiente manera:

- La persona de turno, debidamente protegida, deberá limpiar (con material absorbente, papel o gasa) el líquido derramado y desecharlo en la bolsa roja.
- Lavar con detergente o jabón líquido utilizando una
- Gasa, paño o papel toalla, la superficie manchada y enjuagar repetidamente con abundante agua.
- Utiliza hipoclorito de sodio al 10% en una cantidad superior al líquido derramado.
- Si hay fragmentos de vidrio, recogerlos con pala y escoba. Depositar en un recipiente de boca angosta (plástico duro) o guardián, para su posterior desinfección y desecho.
- Si hubiese ruptura de tubos al centrifugar recoger con pinzas los fragmentos de vidrio y residuos sólidos y depositarlos en un guardián para su posterior desinfección y desecho.

- La serófuga debe de ser limpiada y desinfectada con un paño que contenga solución jabonosa con cloro.
- El equipo de limpieza contaminada, debe ser sometido a un proceso de lavado con agua jabonosa y desinfectado con hipoclorito de sodio al 10%.
- En caso de pinchazos cortopunzantes se deberá proceder de la siguiente manera
- Lavar la zona afectada con abundante agua y jabón
- Aplicar solución antiséptica, que puede ser alcohol al 70% o alcohol yodado.
- Reportar al jefe del área, el accidente, quien deberá seguir el procedimiento para pinchazos.<sup>13</sup>

### **Errores de origen técnico**

**Los reactivos:** Los problemas pueden deberse a:

- La caducidad de los reactivos.
- Su alteración por almacenamiento en condiciones poco idóneas.
- Es necesario realizar un control de la reactividad de los mismos con una o más muestras conocidas.

**Las muestras:** La calidad de las muestras puede verse afectada por las técnicas de extracción y de conservación.

**El equipo:** Los instrumentos empleados pueden ser defectuosos.

**Los métodos:** Pueden surgir errores debido, entre otras cosas, a prácticas inadecuadas o a no seguir las instrucciones del fabricante de los reactivos usados.

El uso sistemático de controles conocidos en conexión con todas las técnicas aplicadas alertará sobre cualquier problema técnico. Además, es conveniente recordar aquí la enorme importancia de determinar siempre el grupo hemático y sérico al que pertenece toda muestra como mecanismo para garantizar la correcta identificación del grupo ABO.<sup>21</sup>

### **La calidad de los reactivos**

Todos los centros adquieren los reactivos que van a utilizar después de comprobar que cumplen sus expectativas técnicas. Ello no significa, no obstante, que no deban someterse a controles sistemáticos que deben abarcar:

Calidad de los análisis inmunohematológicos:

1. El registro, en el momento de la recepción de los reactivos, de que las condiciones de embalaje, temperatura y caducidad son adecuadas.
2. La evaluación de cada lote en el laboratorio antes de usarlo.
3. El control de las condiciones de almacenamiento.
4. El cumplimiento de las instrucciones del fabricante para garantizar resultados correctos.
5. El análisis diario de controles internos apropiados para garantizar la corrección y repetibilidad de los resultados.

Cualquier error o problema debe ser convenientemente registrado y comunicado.<sup>14</sup>

## **La calidad de las técnicas**

Todos los procedimientos de trabajo deben estar escritos con claridad y concisión y, una vez que estén aprobados, deberán colocarse en un lugar de fácil acceso para que el personal pueda consultarlos.

Nadie puede practicar las técnicas de una forma distinta de la aprobada y no hay que olvidar que la mayoría de los errores que se cometen se pueden evitar si se siguen las normas. Es preciso:

- Identificar y ordenar las muestras correctamente.
- Controlar los reactivos.
- Estudiar controles positivos y negativos junto con las muestras problemáticas y constatar que se obtienen los resultados esperados.
- Establecer un sistema a prueba de errores para el registro de los resultados.

## **La calidad de los instrumentos**

El equipo que contiene un laboratorio debe ser el adecuado para el uso al que está destinado. Para garantizar su correcto funcionamiento es necesario cumplir las siguientes normas:

### **Control de la calidad de los reactivos. Solución de baja fuerza iónica (liss)**

Parámetros que se deben controlar

- Requisitos cualitativos.
- Frecuencia de los controles.

- Apariencia.
- pH.
- Conductividad.
- Ausencia de turbidez o partículas detectables por examen visual 6,7 (6,5 a 7) 3,7 mS/cm (3,44 a 3,75) a 23 °C.

### **Control de la calidad de los reactivos. Hematíes**

Parámetros que se deben controlar

- Requisitos cualitativos
- Frecuencia de los controles
- Apariencia
- Reactividad y especificidad
- Ausencia de turbidez o hemólisis en el sobrenadante.
- Reacciones claras con sueros seleccionados frente a los antígenos eritrocitarios
- Diaria cada nuevo lote, el primero y último día de vida.

### **Control de la calidad. Proteasas**

Parámetros que se deben controlar

- Requisitos cualitativos
- Frecuencia de los controles

- Reactividad
- Potencia
- Ausencia de aglutinación o hemólisis empleando un suero AB inerte
- Aglutinación de los hematíes sensibilizados con un anticuerpo anti-D de tipo IgG a título débil
- Un suero de tipo IgG, preferiblemente anti-D, estandarizado en un título de 1/64 a 1/128 debe dar esta misma titulación con los diferentes lotes de la enzima.<sup>17</sup>

Cada nuevo lote

- La empresa suministradora le proporcionará al técnico la formación necesaria para que sepa usarlo.
- Para cada aparato habrá una ficha donde se irán anotando todos los incidentes, reparaciones y operaciones de mantenimiento. Se establecerá una vida media después de la cual el aparato se considerará amortizado.
- En el momento de adquirir un aparato y después de hacerle reparaciones importantes, es necesario someterlo a un control o una calibración (centrífugas, incubadoras de temperatura, lavadora de Coombs, etc.)
- Es preciso planificar un mantenimiento periódico interno, realizado dentro del propio laboratorio, que comprenderá actividades de limpieza y de índole menor, así como un control externo para aquellos aparatos que se consideran críticos para garantizar la validez de los resultados. El control externo será realizado preferentemente.

### **Control de calidad de los reactivos. Sueros ABO**

Parámetros que se deben controlar

- Requisitos cualitativos
- Frecuencia de los controles
- Apariencia
- Reactividad y especificidad
- Potencia
- Ausencia de hemólisis, precipitación, partículas, o formación de gel detectables mediante examen visual
- Ausencia de hemólisis inmune, formación de *rouleaux* fenómeno de prozona
- Reacciones claras con los hematíes portadores del antígeno correspondiente.
- El suero no diluido debe producir una reacción de 3+ a 4+ en medio salino con hematíes al 3% a temperatura ambiente. Su titulación debe ser de 1/128 para al anti-A, anti-B, y anti-AB con hematíes A1y B, y de 1/64 con hematíes A2 y A2B.

### **Control de calidad de los reactivos. Sueros Rh**

Parámetros que se deben controlar

- Requisitos cualitativos
- Frecuencia de los controles
- Apariencia
- Reactividad y especificidad

- Potencia
- Lo mismo que para los sueros ABO
- El suero sin diluir debe dar una reacción de 3+ a 4+ en el test diseñado para cada suero
- Titulación de 1/16 para anti-D, anti-C, anti-E, anti-c, anti-e y anti-CDE, utilizando hematíes R1 r, R2 r, r' r, o r" r

### **Control de calidad de los reactivos. Suero antiglobulina humana (polivalente)**

Parámetros que se deben controlar

- Requisitos cualitativos
- Frecuencia de los controles
- Apariencia
- Reactividad y especificidad
- Ausencia de turbidez, precipitado, partículas o formación de gel en el examen visual.
- Ausencia de actividad aglutinante o hemolítica de los hematíes no sensibilizados de cualquier grupo ABO
- Aglutinación de hematíes sensibilizados con un suero anti-D que contenga una actividad de anticuerpos < 10 ng/MI.
- Aglutinación de hematíes sensibilizados por un suero que fije complemento (p.e. anti-Jka ), a un título más elevado en presencia que en ausencia de complemento

- Aglutinación de hematíes recubiertos de C3b y C3d y aglutinación débil o nula con hematíes recubiertos de C4b y C4d.
- Calidad de los análisis inmunohematológicos por la empresa que lo suministró y puede ser anual o no, según la actividad a la que esté sometido el aparato.
- En el caso de los sistemas informáticos se establecerán procedimientos de verificación y control.<sup>22</sup>

### **Control de calidad de las técnicas. Tipificación Rh**

- Tipo de prueba
- Requisitos mínimos
- Muestras de control
- Frecuencia de los controles
- Tipificación del factor Rh (D)
- Fenotipo Rh
- Usar dos sueros anti-D diferentes
- Usar el test indirecto de antiglobulina para detectar los Du, si es necesario
- Si se utilizan dos sueros monoclonales deben ser de lotes diferentes y capaces de reconocer con certeza las variantes del antígeno D.
- Tipificación por duplicado usando dos sueros para cada antígeno (C, c, E, e)

- Una muestra D+ y otra D–
- Para una fenotipificación completa, una muestra de cada uno de los siguientes Rh: R1 r, R2 r, r' r, r" r, r r y R1, w r.
- En cada serie de pruebas, o al menos una vez al día, siempre que se usen los mismos reactivos.

### **Control de calidad de las técnicas. Investigación de anticuerpos irregulares**

Tipo de prueba Requisitos mínimos

- Muestras de control
- Frecuencia de los controles
- Detección de Ac anti-A y anti-B
- Detección de Ac irregulares en donantes
- Detección de Ac en receptores
- Usar hematíes A1 y B
- Usar una prueba que detecte los Ac clínicamente significativos
- Utilizar como mínimo un test de antiglobulina indirecto. Si se utilizan
- otros métodos manuales o automáticos deben tener una
- Muestras de suero con un título de Ac anti-A y anti-B superior e inferior
- al aceptado para anti-A y anti-B, respectivamente.
- Muestras de sueros con Ac conocidos

## **Control de calidad del equipo**

### Equipo Control Frecuencia

- Centrífuga de laboratorio
- Centrífuga
- Lavadora de Coombs
- Refrigeradores
- Congeladores
- Baños termostáticos
- Pehachímetros
- Cronometrar la velocidad, aceleración y demora
- Utilizar hematíes sensibilizados con anti-D
- Termómetros de precisión
- Soluciones de control de pH: 4–7 y 7–10.

El personal debe saber no solo cómo realizar las tareas encomendadas, sino el porqué de las mismas y las consecuencias de no seguir los procedimientos aprobados. Antes de encomendarle la responsabilidad de una determinada tarea a un miembro del personal, es necesario que este haya superado una formación adaptada a su puesto y algunas pruebas de pericia. Se establecerá una formación continuada breve de forma periódica y una formación específica ante variaciones de las tareas, la aplicación de nuevas técnicas, o cualquier otro cambio. El

personal deberá firmar siempre el trabajo que realiza y la acumulación de errores será motivo de formación adicional.

### **La automatización como medio para eliminar errores**

La automatización ha venido a impartir rapidez, estandarización y seguridad a las pruebas de laboratorio. Siguiendo las indicaciones del fabricante, los procesos automatizados evitan errores en los procedimientos y en la transcripción de datos siempre que los resultados se trasmitan directamente al ordenador central.

En inmunohematología, las reacciones de aglutinación son captadas por lectores automáticos que utilizan una técnica fotométrica. El sistema informático determina, por ejemplo, el grupo sanguíneo de cada muestra comparando la reacción de aglutinación positiva o negativa de la muestra con las reacciones observadas en sueros usados a manera de patrón. Mediante el uso de etiquetas con códigos de barras se consigue identificar correctamente las muestras y los resultados, proporcionando al técnico una seguridad adicional.<sup>21</sup>

### **Controles de calidad externos**

La participación voluntaria en programas de control de calidad externos confiere a un centro la oportunidad de someter a revisión periódica los resultados que obtiene y de identificar posibles deficiencias que debe superar. Se establece así una evaluación.<sup>8</sup>

## 2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

**Antígenos:** Es una molécula capaz de inducir a una respuesta inmune, por lo cual se le conoce también como inmunógeno.

**Xenoantígenos:** son antígenos o inmunógenos que se originan en una especie diferente a la inmunizada.

**Alérgeno:** cualquier agente que provoca una reacción de hipersensibilidad mediada por la IgE.

**Autoantígenos:** están presentes en las células de un mismo individuo contra el cual se desarrolla anticuerpos.

**Avidez:** intensidad de la unión entre los componentes de una reacción antígeno-anticuerpo.

**Complemento:** grupo de proteínas séricas involucradas en el control de la inflamación, activación de fagocitos y ataque lítico a membranas celulares.

**Determinante antigénico:** estructura presente en la superficie molecular de un antígeno, capaz de combinarse con una sola molécula del anticuerpo.

**Hemaglutinación:** aglutinación eritrocitaria causada por anticuerpos.

**Haloantígenos:** son antígenos o inmunógeno que provienen de la misma especie pero diferente genéticamente.

**Anticuerpos:** Glucoproteínas formadas por el organismo como respuesta al contacto con un antígeno y que reacciona específicamente contra él

**Reacción hemolítica:** la reacción antígeno – anticuerpo con la subsiguiente hemólisis de los eritrocitos.

**Epítomos:** o determinante antigénico es la porción de una macromolécula que es conocida por sistema inmunitario, específicamente de la secuencia específica a la que se unen los anticuerpos.

**Reacción adversa:** es todo fenómeno negativo presentado en el transcurso o con posterioridad a la donación o transfusión de un hemocomponente o hemoderivado.

**Receptor:** es todo individuo que recibe un hemocomponente o hemoderivado por inyección parenteral.

**Fiebre de heno:** Durante la primavera, el verano y el otoño el polen flota en el aire. Mediante la respiración, el polen penetra en las fosas nasales, provocando que las personas alérgicas fabriquen unos productos químicos denominados histaminas. Éstas causan estornudos, rinorrea, ojos enrojecidos y acuosos, picor, congestión o fiebre del heno

**Urticaria:** Son ronchas rojizas, elevadas y a menudo pruriginosas que aparecen en la superficie de la piel y que usualmente son una reacción alérgica a algún alimento o medicamento.

**Choque anafiláctico:** Choque por reacción alérgica extrema. Habitualmente no sucede en la primera exposición del organismo al alérgeno, sino que sucede después de que la persona que ya se ha expuesto, ha quedado sensibilizada a esa sustancia en particular.

**Paratope:** La parte del antígeno al cual se une el paratopo se llama un epítopo, es la parte de un anticuerpo que reconoce un antígeno, el sitio de unión al antígeno de un anticuerpo. Es una pequeña región (de 15-22 aminoácidos) del anticuerpo región Fv y contiene partes del anticuerpo pesadas y las cadenas de luz

**Heterodímero:** Molécula formada por dos componentes diferentes, pero estrechamente relacionados, como una proteína compuesta por la unión de dos cadenas separadas.

**Sistema inmunitario:** es la defensa del cuerpo ante organismos infecciosos y otros invasores. Mediante una serie de pasos llamados "respuesta inmune", el sistema inmunitario ataca a los organismos y las sustancias que invaden los sistemas del cuerpo y causan las enfermedades.

**Glucosilación:** es un proceso químico en el que se adiciona un glúcido a otra molécula. Esta molécula se denomina aceptor. La molécula aceptora puede ser de muchos tipos, por ejemplo de naturaleza proteica o lipídica.

**Mieloma:** también conocido como mieloma múltiple, es un tipo de cáncer de la médula ósea que se produce por una degeneración maligna de las células plasmáticas, que se encuentran normalmente en la médula. Las células plasmáticas forman la parte del sistema inmune.

**Heteroaglutininas:** Aglutinina que actúa sobre los glóbulos de un individuo de especie diferente.

**Escindir:** Separar o dividirse en dos o más partes de importancia similar

**Leucotrienos:** son una sustancia química natural que promueve una respuesta inflamatoria. Cuando se producen y liberan en el cuerpo, este producto químico provoca la constricción de las vías respiratorias, la tensión de los músculos, y el exceso de moco y líquido. En un sistema inmunológico que funciona normalmente, algunos de los leucotrienos tienen un efecto quimiotáctico sobre neutrophils en el torrente sanguíneo.

## **2.4.HIPÓTESIS Y VARIABLES**

### **2.4.1. HIPÓTESIS**

Se puede identificar anticuerpos inespecíficos mediante la preparación y empleo de panel de células caseras.

### **2.4.2. VARIABLES**

#### **INDEPENDIENTE**

Preparación de células caseras

#### **DEPENDIENTE**

Identificación de anticuerpos inespecíficos.

## **2.5.OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES**

VARIABLE	CONCEPTO	CATEGORIA	INDICADORES	ESCALA	INSTRUMENTO
<b>INDEPENDI- ENTE</b>  células caseras	Hematíes suspendidos en solución salina al 0,9% que contiene cargas antigénicas del sistema Rh para unirse a los anticuerpos presentes en el suero o plasma del receptor e identificar la presencia de estos anticuerpos previniendo la sensibilización o la reacción transfusional	Prueba de compatibilidad	Reacción de hemaglutinación positivo y negativo	Negativo: (-)  Positivo: se reporta por cruces 1 (+) 2 (++) 3 (+++) 4 (++++)	Guía de observación:  Técnica de coombs indirecto  Técnica de panel de células  Técnica de pantallas I-II-III
<b>DEPENDIEN- TE</b>  Identificación de anticuerpos inespecíficos	Anticuerpo que surge ante un estímulo antigénico inducido por transfusiones sanguíneas o embarazos incompatibles que son causantes de reacciones hemolíticas.	Coombs indirecto	Reacción de hemaglutinación positivo y negativo	Negativo: (-)  Positivo: se reporta por cruces 1 (+) 2 (++) 3 (+++) 4 (++++)	Guía de observación:  Técnica de coombs indirecto  Técnica de panel de células  Técnica de pantallas I-II-III

## **CAPÍTULO III**

### **3. MARCO METODOLÓGICO**

#### **3.1. MÉTODO**

En la presente investigación se procederá a utilizar el método deductivo – inductivo con un procedimiento analítico, sintético y explicativo, con el fin de llegar a nuestro objetivo.

##### **- TIPO DE INVESTIGACIÓN**

La investigación que se realizará en este trabajo será descriptiva, con el fin de llegar a una investigación explicativa.

##### **- DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN**

Se realizará una investigación de campo no experimental.

##### **- TIPO DE ESTUDIO**

Se tratará de un estudio longitudinal.

#### **3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA**

##### **3.2.1. POBLACIÓN**

165 muestras

### **3.2.2. MUESTRA**

165 muestras

## **3.3. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

### **3.3.1. TÉCNICAS**

Observación.

Análisis documental.

Recopilación bibliográfica.

### **3.3.2. INSTRUMENTOS**

#### **GUIA DE OBSERVACIÓN:**

Técnica de coombs indirecto.

Técnica de panel de células.

Técnica de pantallas I-II-III.

## **3.4. TÉCNICAS PARA EL ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

Cuadros

Tabulación

Análisis

### 3.5.DATOS ESTADISTICOS

**TABLA N° 1**

**CANTIDAD DE MUESTRAS ANALIZADAS**

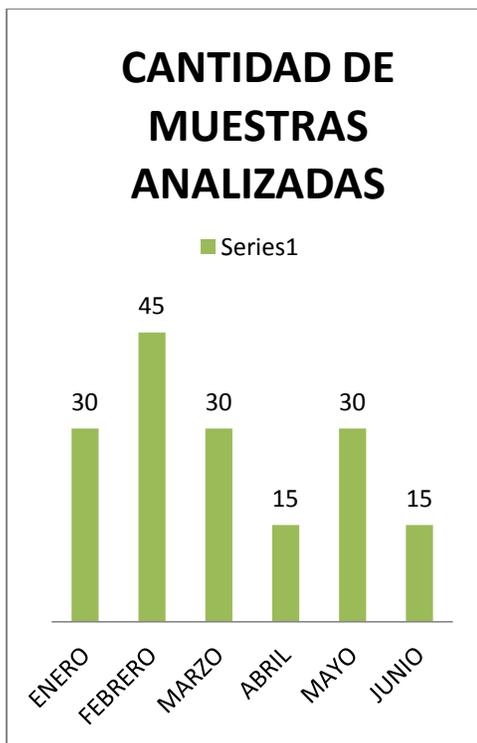
ENERO	FEBRERO	MARZO	ABRIL	MAYO	JUNIO
30	45	30	15	30	15

165

*Fuente:* Laboratorio Clínico Hospital Civil de Alausí.

*Diseño:* Verónica Moreno y Rosa Bonilla.

**GRÁFICO N° 1 TABLA N° 1**



**GRÁFICO N° 2 TABLA N° 1**



*Fuente:* Laboratorio Clínico Hospital Civil de Alausí.

*Diseño:* Verónica Moreno y Rosa Bonilla.

**INTERPRETACIÓN:** Durante el período de investigación se recolectaron 165 muestras, distribuidas de la siguiente manera: en Enero 30 muestras, representado en un porcentaje de 18%, en Febrero, 45 muestras, representado en

un 28%, en Marzo, 30 muestras representado en un 18%, en Abril 15 muestras, representado en un 9%, en Mayo 30 muestras, representado en un 18% y finalmente en Junio 15 muestras, que representa un 9% siendo muy factibles para nuestra investigación.

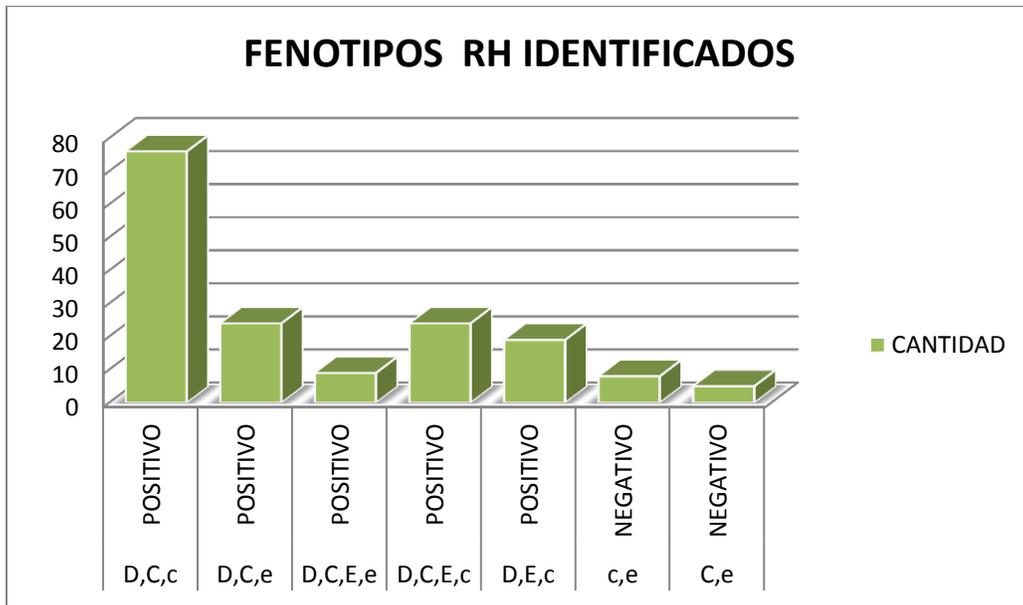
**TABLA N° 2**  
**FENOTIPOS Rh IDENTIFICADOS**

<b>ANTÍGENOS</b>	<b>INTERPRETACION Rh</b>	<b>CANTIDAD</b>
D,C,c	POSITIVO	76
D,C,e	POSITIVO	24
D,C,E,e	POSITIVO	9
D,C,E,c	POSITIVO	24
D,E,c	POSITIVO	19
c,e	NEGATIVO	8
C,e	NEGATIVO	5

**Fuente:** Laboratorio Clínico Hospital Civil de Alausí.

**Diseño:** Verónica Moreno y Rosa Bonilla.

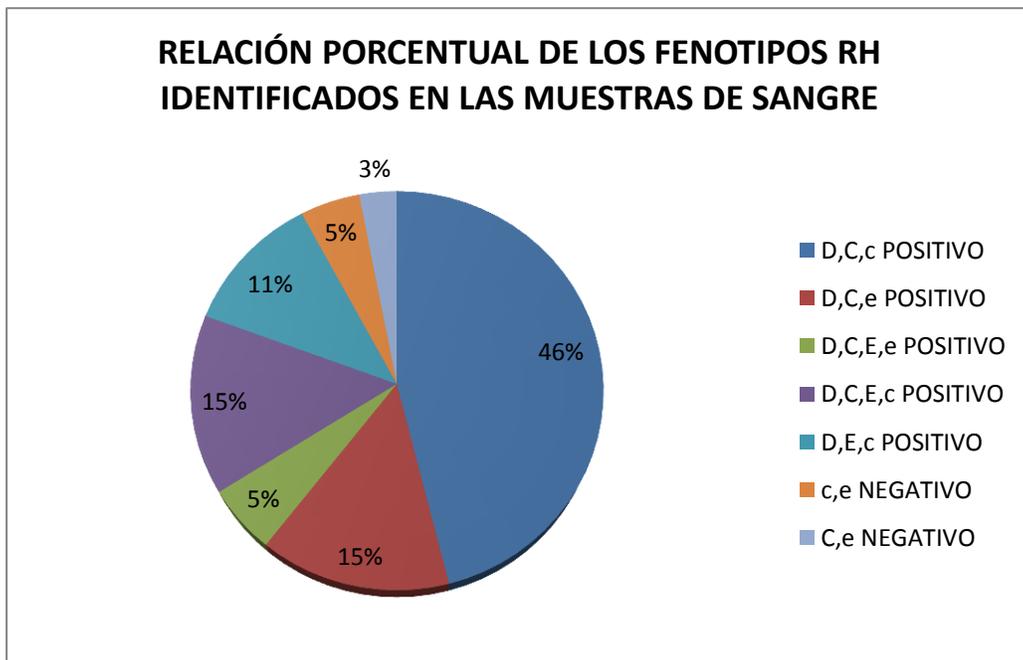
**GRÁFICA N° 1 TABLA N° 2**



**Fuente:** Laboratorio Clínico Hospital Civil de Alausí.

**Diseño:** Verónica Moreno y Rosa Bonilla

**GRÁFICA N° 2 TABLA N° 2**



**Fuente:** Laboratorio Clínico Hospital Civil de Alausí.

**Diseño:** Verónica Moreno y Rosa Bonilla.

**INTERPRETACIÓN:** Los antígenos de los grupos sanguíneos se disponen en grupos de dos, tres y hasta cuatro combinaciones antigénicas, en personas no transfundidas, en los análisis realizados la combinación fenotípica D,C,c es la de mayor porcentaje, CON REPRESENTACIÓN DE UN 46% DE LOS ENSAYOS REALIZADOS, DENTRO DE LA CLASIFICACIÓN DE LA POSITIVIDAD RHD, LA COMBINACIÓN D,C,E,e, tienen un porcentaje menor, que se le representa con el 5% de los ensayos Rh D positivos. Los ensayos RhD negativos se identifican en combinaciones fenotípicas de dos variantes, la una c,e en porcentaje 5% que le corresponde a 8 ensayos en total y la segunda variante C,e con 5 ensayos, representado en un 3% del porcentaje total de ensayos.

La identificación de fenotipos del sistema Rh nos ayuda a conocer la combinación de los antígenos mayores como menores que se presentan en el Rh D positivo y en el Rh d negativos, permitiendo así la preparación de un pool de células reactivas que identifiquen a los anticuerpos irregulares del sistema Rh

### TABLA N° 3

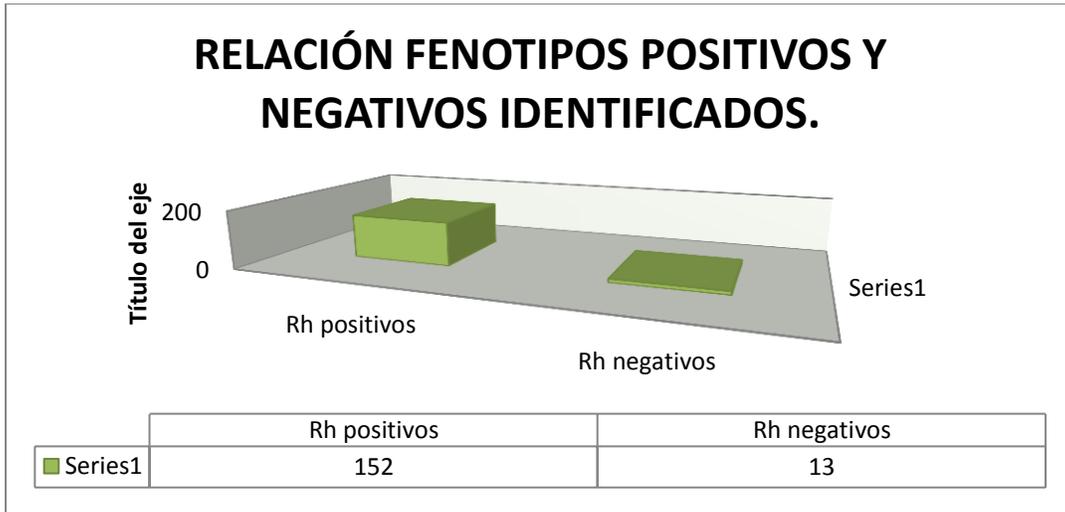
#### RELACIÓN FENOTIPOS POSITIVOS Y NEGATIVOS IDENTIFICADOS

Rh positivos	Rh negativos
152	13

*Fuente:* Laboratorio Clínico Hospital Civil de Alausí.

*Diseño:* Verónica Moreno y Rosa Bonilla.

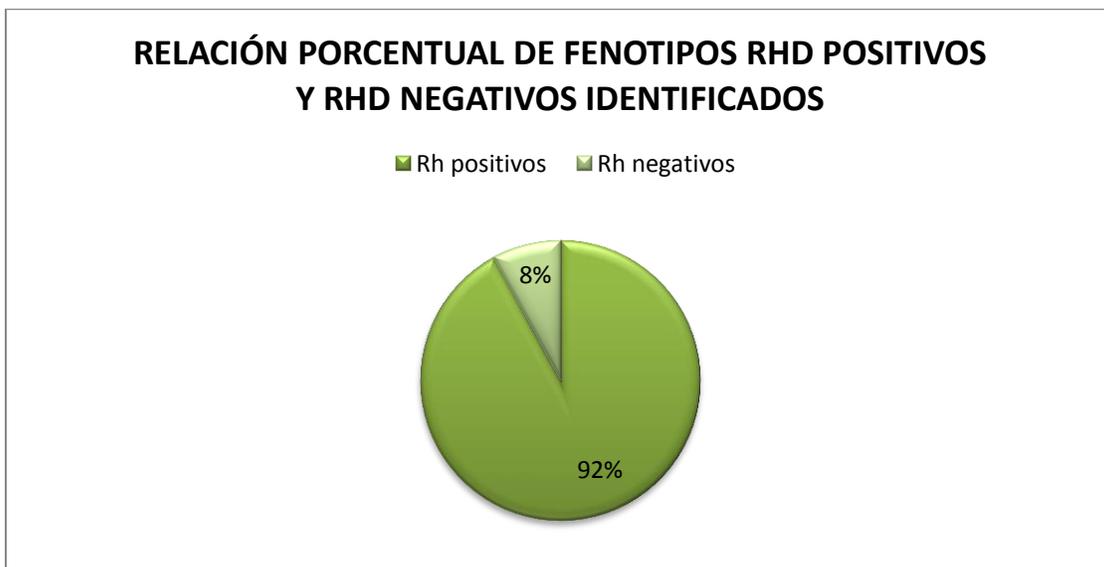
GRÁFICA N° 1 TABLA N° 3



**Fuente:** Laboratorio Clínico Hospital Civil de Alausí.

**Diseño:** Verónica Moreno y Rosa Bonilla.

GRÁFICA N° 2 TABLA N° 3



**Fuente:** Laboratorio Clínico Hospital Civil de Alausí.

**Diseño:** Verónica Moreno y Rosa Bonilla.

**INTERPRETACIÓN:** Para la preparación de células caseras que identifiquen anticuerpos irregulares o inespecíficos, se necesitan hematíes tipificados como Rh d negativos y Rh D positivos, que tengan variedad antigénico en el acompañamiento o ausencia del antígeno D. 92% de muestras analizadas son RhD positivas, en ellas se encuentran variedades antigénicas C,c,E y e. RhD negativas son identificadas en un total de 13, representadas en porcentaje con un 8%, estas células al igual se combinan con otros fenotipos y son de gran utilidad en rastrear anticuerpos irregulares a acción del anticuerpo anti -D, por carecer de esta antígenos las células caseras.

Con la identificación de los fenotipos D positivo y d negativo podemos evaluar anticuerpos anti-Rh de mayor y menor probabilidades a encontrarse en la población como en el caso de mujeres D negativas, así como también en el caso de aloinmunizaciones en transfusiones D positivos a pacientes d negativos.

## TABLA N° 4

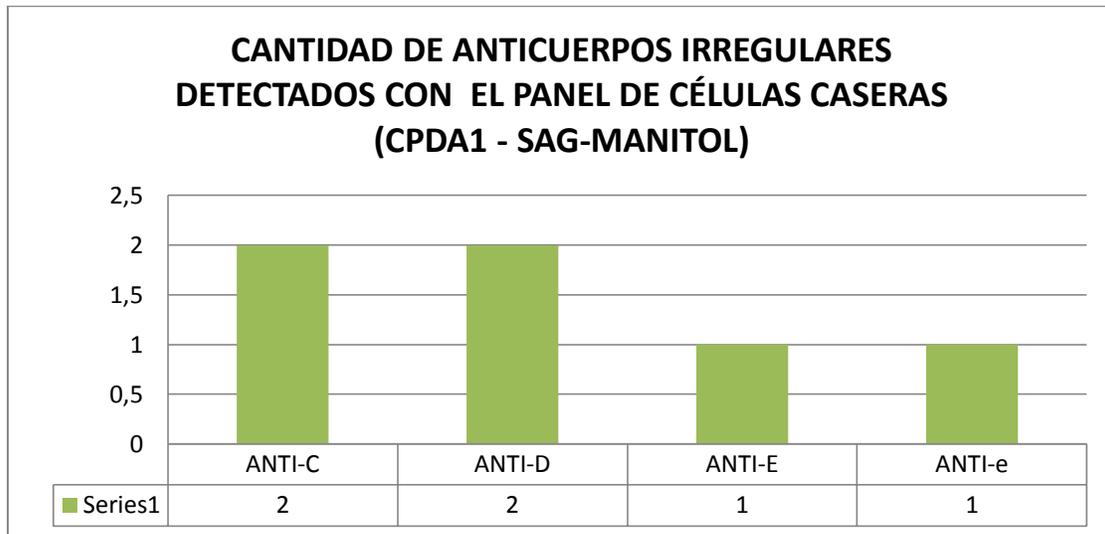
### CANTIDAD DE ANTICUERPOS IRREGULARES

ANTI-C	ANTI-D	ANTI-E	ANTI-e
2	2	1	1

*Fuente:* Laboratorio Clínico Hospital Civil de Alausí.

*Diseño:* Verónica Moreno y Rosa Bonilla.

**GRÁFICA N° 1 TABLA N° 4**



*Fuente: Laboratorio Clínico Hospital Civil de Alausí.*

*Diseño: Verónica Moreno y Rosa Bonilla.*

**INTERPRETACIÓN:** se enfrentó plasma humano en el que se identificaron seis pruebas positivas, los anticuerpos presentes son el ANTI-C 2, EL ANTI-D 2, EL ANTI-E 1, EL ANTI-e 1. El panel de células preparadas fue utilizando CPDA1 y otros con SAG MANITOL, ambos permiten la identificación de los mismos anticuerpos y en la misma cantidad registrado, para estos resultados se analizaron 60 muestras con panel que contenía CPDA1 y las mismas con panel de células que contenían SAG MANITOL.

La preparación de células caseras combinando fenotipos mayores y menores fueron útiles para identificar anticuerpos anti Rh mayores y menores.

## TABLA N° 5

### INTENSIDAD DE REACCIÓN DEL PANEL DE CÉLULAS CON CPDA1 Y SAG MANITOL

INTENSIDAD DE REACCIÓN CPDA1	INTENSIDAD DE REACCIÓN SAG MANITOL
2	2

*Fuente:* Laboratorio Clínico Hospital Civil de Alausí.  
*Diseño:* Verónica Moreno y Rosa Bonilla.

### GRÁFICA N° 1 TABLA N° 5



*Fuente:* Laboratorio Clínico Hospital Civil de Alausí.  
*Diseño:* Verónica Moreno y Rosa Bonilla.

**INTERPRETACIÓN:** El panel de células preparado con CPDA1, utilizado en la identificación de anticuerpos inespecíficos, denotan intensidad de reacción de hasta 2 cruces, al igual que el panel en el que se empleó SAG MANITOL.

El panel de células preparado con preservantes como son el CPDA1 y SAG MANITOL fue de gran utilidad, porque presentan una alta sensibilidad, acto que beneficia nuestra investigación para demostrar la presencia o ausencia de anticuerpos irregulares o inespecíficos.

## TABLA N° 6

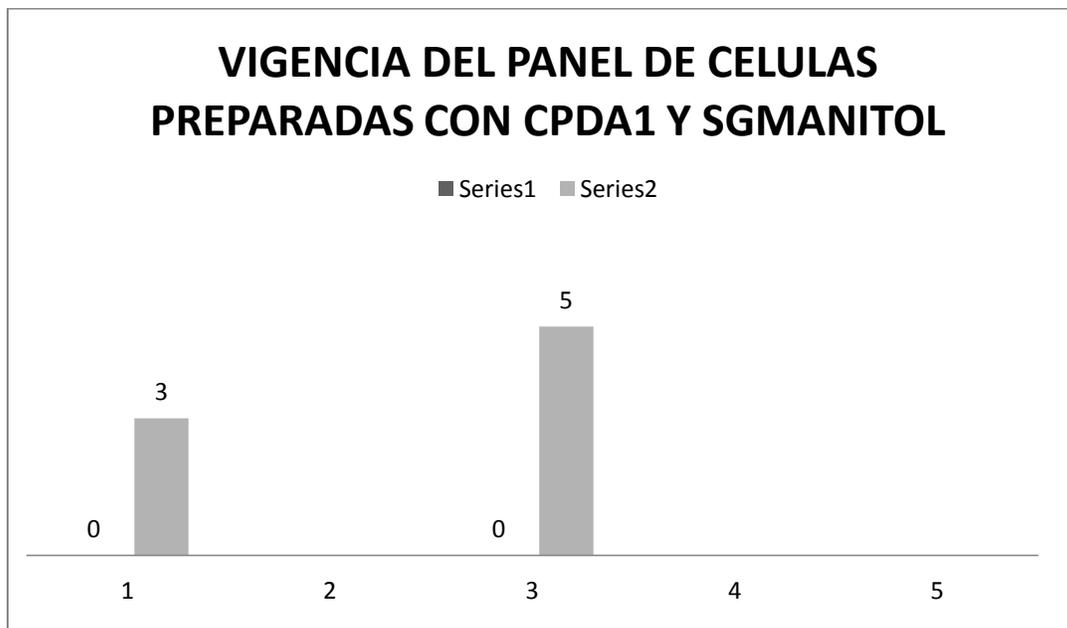
### VIGENCIA DEL PANEL DE CÉLULAS PREPARADAS CON CPDA1 Y SAG MANITOL

VIGENCIA DEL PANEL CPDA1	VIGENCIA DEL PANEL SAG MANITOL
3	5

*Fuente:* Laboratorio Clínico Hospital Civil de Alausí.

*Diseño:* Verónica Moreno y Rosa Bonilla.

### GRÁFICA N° 1 TABLA N° 6



*Fuente:* Laboratorio Clínico Hospital Civil de Alausí.

*Diseño:* Verónica Moreno y Rosa Bonilla.

**INTERPRETACIÓN:** el panel de células preparado con sag manitol le da vigencia hasta de cinco días, con intensidades de reacción de hasta 2 cruces, los preparados con cpda1 le dan menos días de vigencia con igual poder de reacción.

## CAPÍTULO IV

### 4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES:

#### 4.1. CONCLUSIONES

- Se identificó fenotipos mayores y menores del sistema Rh mediante la tipificación directa en tubo ayudando a conocer la combinación de antígenos mayores como menores que se representa en el Rh D positivo y en el Rh d negativo.
- Se relacionó fenotipos mayores y menores para la preparación del panel de células caseras mediante la identificación de los fenotipos D positivos y d negativos permitiendo evaluar anticuerpos Anti-Rh de mayor y menor probabilidades a encontrarse en la población.
- Se valoró los anticuerpos irregulares mediante el uso del panel de células caseras preparadas en la que se identificó seis pruebas positivas estando presentes el Anti - C, el Anti - D, el Anti - E, y el Anti - e.

## 4.2.RECOMENDACIONES

- Se recomienda aplicar las diferentes normas de bioseguridad, tomando en cuenta que toda muestra biológica es considerada altamente peligrosa.
- Seguir los procedimientos de acuerdo a lo mencionado evitando así posibles errores.
- Una vez cumplido el periodo de vigencia con cada uno de los preservantes, desechar y preparar unos nuevos, así demostrando ética al igual que eficacia al cumplir con nuestro trabajo como profesionales, en beneficio del paciente.

## BIBLIOGRAFÍA

### Libros:

1. ABUR k. Abbar, Inmunología celular y molecular, 3era edición.
2. ARTHUR, C. Guyton, M.D<sup>+</sup> y John E. Hall, Ph.D. Tratado de fisiología medica, decimo primera edición.
3. BENJAMIN, Fausto García Espinoza, Hematología 2 Hemostasia Banco de sangre Control de calidad, editorial Paraninfo.
4. Dp. JARAMILLO, Fernando. La práctica Transfusional y la Inmunohematología. Guía práctica 2010
5. RICHARD, A. Goldsby, Thomas J. Kindt, Barbara A. Osborne, Inmunología, 5ta edición.
6. TRISTRAM, G. Parslow, Daniel P. Stites, Abba Y. Terr, Jhon B. Inboden. Inmunología Básica y Clínica. Decima Edición.
7. WILLIAMS, Ernest Beutler, Marshall A. Lichtman, Barry S. Coller, Thomas J. Kipps, Uri Seligsohn, Hematología, edición 2005, tomo 2.

### Lincografía:

8. <http://pathmicro.med.sc.edu/spanish-immuno/imm-chapter3.htm>
9. [http://www.google.es/url?sa=t&rct=j&q=anticuerpos&source=web&cd=13&sqi=2&ved=0CIgBEBYwDA&url=http%3A%2F%2Fcentros5.pntic.mec.es%2Fmiguel74%2Fhemato%2Fpina%2F45\\_anticuerpos.ppt&ei=F8LbTvLcA5Lyg-gfcy8jqDA&usg=AFQjCNFeirffLxFe-TiVLcWHUHuyD4uv7A&cad=rja](http://www.google.es/url?sa=t&rct=j&q=anticuerpos&source=web&cd=13&sqi=2&ved=0CIgBEBYwDA&url=http%3A%2F%2Fcentros5.pntic.mec.es%2Fmiguel74%2Fhemato%2Fpina%2F45_anticuerpos.ppt&ei=F8LbTvLcA5Lyg-gfcy8jqDA&usg=AFQjCNFeirffLxFe-TiVLcWHUHuyD4uv7A&cad=rja)
10. <http://www.candidiasis cronica.org/Respuesta%20inmune%20y%20S.F.C.htm>
11. [http://www.ugr.es/~eianez/inmuno/cap\\_12.htm](http://www.ugr.es/~eianez/inmuno/cap_12.htm)
12. <http://www.uco.es/grupos/inmunologia-molecular/inmunologia/tema13/etexto13.htm>

13. [http://www.google.es/url?sa=t&rct=j&q=vias%20del%20sistema%20de%20c complemento&source=web&cd=4&ved=0CEUQFjAD&url=http%3A%2F%2Fcentros5.pntic.mec.es%2Fmiguel74%2Fhemato%2Fpina%2F49\\_complemen to.ppt&ei=PNLbTqn\\_JsnXgQeGtPTzBw&usg=AFQjCNGAM-XEOsiCIMr0hl\\_0sADq7cizsw&cad=rja](http://www.google.es/url?sa=t&rct=j&q=vias%20del%20sistema%20de%20c complemento&source=web&cd=4&ved=0CEUQFjAD&url=http%3A%2F%2Fcentros5.pntic.mec.es%2Fmiguel74%2Fhemato%2Fpina%2F49_complemen to.ppt&ei=PNLbTqn_JsnXgQeGtPTzBw&usg=AFQjCNGAM-XEOsiCIMr0hl_0sADq7cizsw&cad=rja)
14. <http://epidemiologiamolecular.com/15/11/2010/reacciones-de-hemaglutinacion-y-lisis/>
15. <http://www.microinmuno.qb.fcen.uba.ar/SeminarioInmunologia2.htm>
16. [http://www.angel.com.co/ser\\_examenes\\_hem.htm](http://www.angel.com.co/ser_examenes_hem.htm)
17. <http://translate.google.es/translate?hl=es&langpair=en|es&u=http://cls.umc.edu/COURSES/CLS325/Week2/Reagents.doc>
18. [http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:VgK0ktYHdDsJ:www.ucv.ve/fileadmin/user\\_upload/facultad\\_farmacia/catedraMicro/08\\_Tema\\_10\\_Reacciones\\_ant%25C3%25ADgeno\\_ant cuerpo.pdf+medios+de+reaccion+que+favorecen+a+la+reaccion+Ag+-+Ac&hl=es&gl=es](http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:VgK0ktYHdDsJ:www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/08_Tema_10_Reacciones_ant%25C3%25ADgeno_ant cuerpo.pdf+medios+de+reaccion+que+favorecen+a+la+reaccion+Ag+-+Ac&hl=es&gl=es)
19. <http://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2005/ims051d.pdf>
20. <http://www.slideshare.net/faquintero/taller-banco-de-sangre-inmunohematologia>
21. <http://books.google.es/books?id=T8FfLxZ6Py4C&pg=PA175&lpg=PA175&dq=panel+de+celulas&source=bl&ots=lmWNYzOM8h&sig=-GmtvcwzjsALSk25jc3GJ5HuRtQ&hl=es&sa=X&ei=PH02T7TYCsG1twe>
22. [xly1Ag&sqj=2&ved=0CFsQ6AEwBg#v=onepage&q=panel%20de%20celulas&f=false](http://xly1Ag&sqj=2&ved=0CFsQ6AEwBg#v=onepage&q=panel%20de%20celulas&f=false)
23. <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:q4NrjdtreiAJ:revinut.udea.edu.co/index.php/piatreia/article/viewFile/3795/3511+reacciones+transfusionales&hl=es&gl=es>
24. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75152004000200008](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152004000200008)
25. [http://bvs.sld.cu/revistas/far/vol38\\_2\\_04/far08204.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/far/vol38_2_04/far08204.htm)

ALEXIOS

## IDENTIFICACIÓN DE FENOTIPOS RH

NÚMERO DE ENSAYOS	ANTI-C	ANTI-E	ANTI-c	ANTI-e	ANTI-D
1	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
2	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>POSITIVO</b>
3	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>POSITIVO</b>
4	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
5	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
6	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	<b>NEGATIVO</b>
7	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>NEGATIVO</b>
8	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>POSITIVO</b>
9	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
10	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
11	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
12	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
13	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
14	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
15	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
16	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
17	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
18	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
19	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO

20	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>POSITIVO</b>
21	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>POSITIVO</b>
22	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>POSITIVO</b>
23	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>POSITIVO</b>
24	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	<b>NEGATIVO</b>
25	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>POSITIVO</b>
26	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>POSITIVO</b>
27	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>POSITIVO</b>
28	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>POSITIVO</b>
29	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>POSITIVO</b>
30	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
31	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
32	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
33	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
34	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
35	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>POSITIVO</b>
36	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
37	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
38	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
39	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
40	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO

41	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
42	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	<b>NEGATIVO</b>
43	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
44	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>POSITIVO</b>
45	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
46	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
47	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
48	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>POSITIVO</b>
49	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
50	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
51	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
52	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
53	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
54	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
55	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
56	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
57	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
58	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
59	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
60	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
61	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO

62	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	<b>NEGATIVO</b>
63	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>POSITIVO</b>
64	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
65	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
66	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>POSITIVO</b>
67	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
68	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
69	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
70	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
71	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
72	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>NEGATIVO</b>
73	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>POSITIVO</b>
74	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
75	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
76	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
77	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
78	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>POSITIVO</b>
79	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	<b>NEGATIVO</b>
80	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
81	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
82	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>POSITIVO</b>

83	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>POSITIVO</b>
84	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>POSITIVO</b>
85	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>POSITIVO</b>
86	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>POSITIVO</b>
87	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>POSITIVO</b>
88	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
89	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
90	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
91	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
92	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
93	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
94	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
95	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>POSITIVO</b>
96	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
97	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>NEGATIVO</b>
98	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
99	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	<b>NEGATIVO</b>
100	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
101	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
102	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>POSITIVO</b>
103	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO

104	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
105	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
106	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
107	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
108	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
109	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
110	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
111	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
112	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>NEGATIVO</b>
113	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
114	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
115	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	<b>NEGATIVO</b>
116	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
117	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
118	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
119	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
120	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
121	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
122	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>POSITIVO</b>
123	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
124	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO

125	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
126	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
127	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
128	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
129	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
130	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
131	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
132	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
133	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
134	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
135	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
136	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
137	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
138	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>POSITIVO</b>
139	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
140	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
141	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
142	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
143	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>POSITIVO</b>
144	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>POSITIVO</b>
145	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>

146	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
147	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
148	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
149	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
150	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
151	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
152	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
153	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
154	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	<b>NEGATIVO</b>
155	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
156	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
157	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
158	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
159	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
160	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>NEGATIVO</b>
161	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>POSITIVO</b>
162	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
163	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
164	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>
165	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>POSITIVO</b>

ANTI-C	ANTI-E	ANTI-c	ANTI-e	ANTI-D	
POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	76

ANTI-C	ANTI-E	ANTI-c	ANTI-e	ANTI-D	
POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>POSITIVO</b>	24

ANTI-C	ANTI-E	ANTI-c	ANTI-e	ANTI-D	
POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>POSITIVO</b>	9

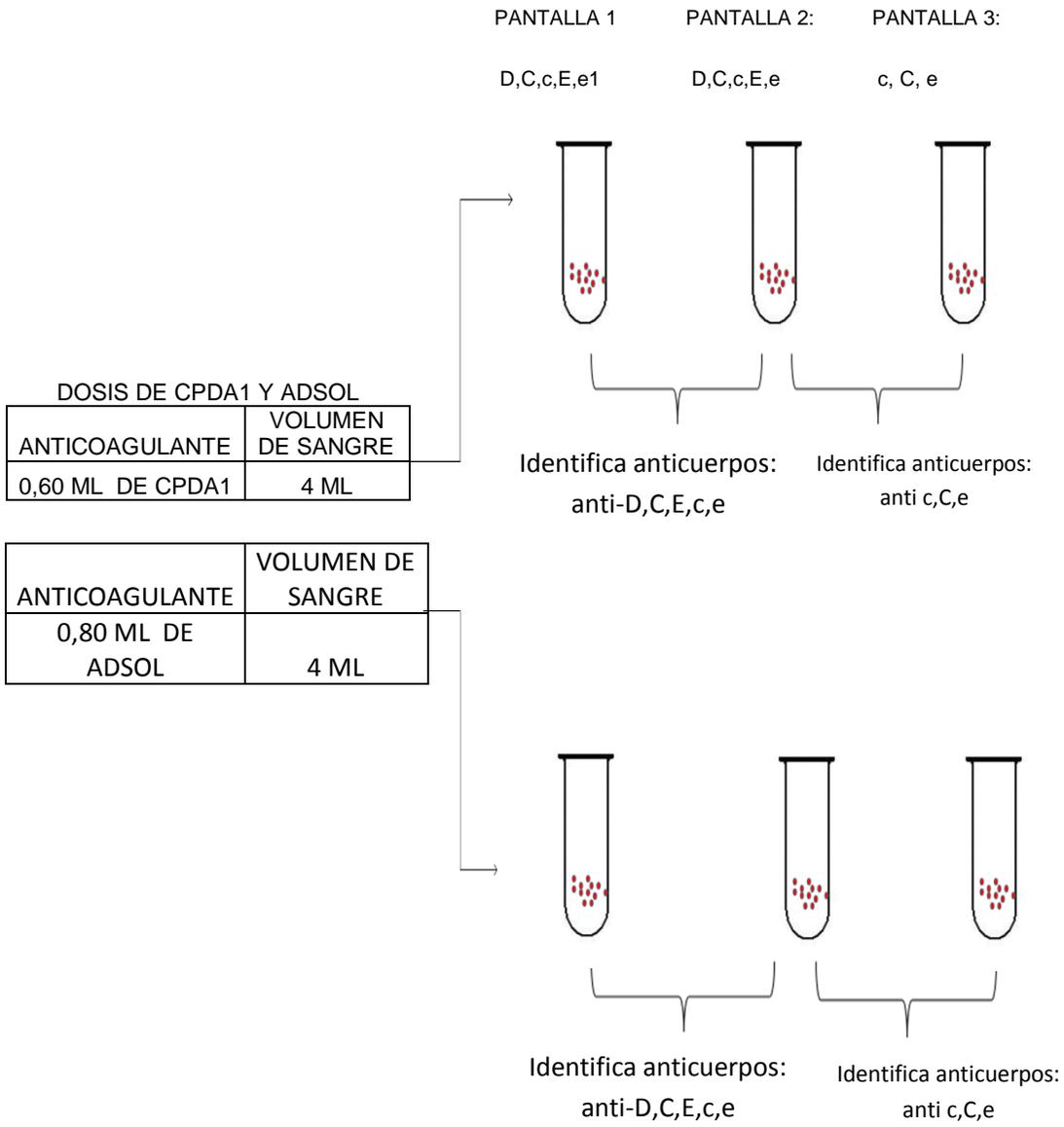
ANTI-C	ANTI-E	ANTI-c	ANTI-e	ANTI-D	
POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>	24

ANTI-C	ANTI-E	ANTI-c	ANTI-e	ANTI-D	
NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	<b>POSITIVO</b>	19

ANTI-C	ANTI-E	ANTI-c	ANTI-e	ANTI-D	
NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	<b>NEGATIVO</b>	8

ANTI-C	ANTI-E	ANTI-c	ANTI-e	ANTI-D	
POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<b>NEGATIVO</b>	5

# ESQUEMA COMPOSICIÓN DE LAS CÉLULAS PANTALLAS I – II – III



**ENSAYOS DE RASTREO DE ANTICUERPOS CON  
PANELES CASEROS - CPDA1**

<b>NÚMERO DE ENSAYOS</b>	<b>PANTALLA 1</b>	<b>PANTALLA 2</b>	<b>PANTALLA 3</b>	<b>RESULTADO</b>	<b>TIPO DE ANTICUERPO</b>	<b>INTENSIDAD DE REACCIÓN</b>
1	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
2	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
3	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
4	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
5	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
6	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
7	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
8	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
9	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
10	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
11	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
12	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
13	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
14	<b>POSITIVO</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>NEGATIVO</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>Anti-C</b>	2
15	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
16	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
17	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
18	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0

19	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
20	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
21	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
22	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
23	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
24	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
25	<b>POSITIVO</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>NEGATIVO</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>Anti-D</b>	2
26	<b>POSITIVO</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>NEGATIVO</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>Anti-D</b>	3
27	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
28	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
29	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
30	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
31	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
32	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
33	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
34	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
35	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
36	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
37	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
38	<b>POSITIVO</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>NEGATIVO</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>Anti-E</b>	2
39	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
40	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0

41	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
42	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
43	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
44	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
45	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
46	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
47	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
48	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
49	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
50	<b>POSITIVO</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>NEGATIVO</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>Anti-e</b>	2
51	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
52	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
53	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
54	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
55	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
56	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
57	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
58	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
59	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
60	<b>POSITIVO</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>NEGATIVO</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>Anti-c</b>	2

## ENSAYOS DE RASTREO DE ANTICUERPOS CON PANELES CASEROS - CPDA1

NÚMERO DE ENSAYOS	PANTALLA 1	PANTALLA 2	PANTALLA 3	RESULTADO	TIPO DE ANTICUERPO	INTENSIDAD DE REACCIÓN
61	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
62	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
63	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
64	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
65	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
66	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
67	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
68	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
69	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
70	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
71	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
72	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
73	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
<b>74</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>NEGATIVO</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>Anti-C</b>	<b>2</b>
75	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
76	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
77	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0

78	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
79	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
80	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
81	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
82	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
83	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
84	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
<b>85</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>NEGATIVO</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>Anti-D</b>	<b>2</b>
<b>86</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>NEGATIVO</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>Anti-D</b>	<b>2</b>
87	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
88	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
89	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
90	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
91	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
92	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
93	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
94	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
95	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
96	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
97	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
<b>98</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>NEGATIVO</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>Anti-E</b>	<b>2</b>
99	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0

100	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
101	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
102	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
103	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
104	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
105	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
106	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
107	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
108	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
109	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
<b>110</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>NEGATIVO</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>Anti-e</b>	2
111	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
112	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
113	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
114	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
115	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
116	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
117	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
118	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
119	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NINGUNO	0
<b>120</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>NEGATIVO</b>	<b>POSITIVO</b>	<b>Anti-c</b>	2