



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA

**TESINA DE GRADO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE LICENCIADAS EN LA ESPECIALIDAD:
LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO**

TÍTULO:

**“IMPORTANCIA DE LA UTILIZACIÓN DEL ANTISUERO CDE
COMO CONTROL DE CALIDAD EN LA IDENTIFICACIÓN
DE LOS FENOTIPOS DEL SISTEMA Rh EN MUJERES DE
EDAD FÉRTIL ATENDIDAS EN EL BANCO DE SANGRE DE
RIOBAMBA, DURANTE EL PERÍODO DE ENERO A JUNIO
DEL 2010”**

AUTORES

SILVANA MARIBEL ORTEGA SAMANIEGO

CARINA PAOLA PALACIOS RUIZ

TUTORES:

Lic. FERNANDO JARAMILLO

Dr. MARIO REINOSO

RIOBAMBA-ECUADOR

2009- 2010

ACEPTACIÓN DEL TUTOR

Por la presente, hago constar que leído el protocolo del Proyecto de Grado

Presentado por las señoritas SILVANA MARIBEL ORTEGA SAMANIEGO Y CARINA PAOLA PALACIOS RUIZ para optar al título de LICENCIADAS EN LABORATORIO E HISTOPATOLOGICO, y que acepto asesorar a las estudiantes en calidad de tutor, durante la etapa del desarrollo del trabajo hasta su presentación y evaluación.

Riobamba,

Lic. Fernando Jaramillo

DEDICATORIA

Con el más sublime de los sentimientos dedico esta Tesis a Dios, a mis padres Holger Palacios y Marina Ruiz que con su apoyo incondicional han sido el pilar para llegar a ser profesional y servir a la sociedad.

DEDICATORIA

El presente trabajo es el reflejo de constancia y perseverancia de quienes confiaron en mi responsabilidad como estudiante, Gonzalo Ortega y Bertha Samaniego, mis padres. Quienes han sido mi aliento y motor fundamental para emprender nuevos retos y desafíos. A ellos mi trabajo.

AGRADECIMIENTO

A, Dios, a mis padres por su apoyo incondicional en mi formación profesional y a mis maestros por sus guías y consejos.

AGRADECIMIENTO

A mis padres por su guía y consejos para mi progreso profesional, a mis maestros por impartir sus conocimientos sabios para la formación de cada una de nosotras.

RESUMEN

El estudio de la sangre comprende valorar alteraciones de sus componentes en forma, cantidad, funciones. Pero también el estudio de este componente vital permite compensar a cualquiera de sus componentes mediante estudios especializados dentro del área de la inmunohematología.

Un sistema de grupos sanguíneos está formado por antígenos producidos tanto directa como indirectamente. Más tarde se descubrió otro grupo de antígenos que se denominaron factores Rhesus (factores Rh), porque fueron descubiertos durante unos experimentos con monos Rhesus. Las personas con factores Rhesus en su sangre se clasifican como Rh positivas; mientras que aquellas sin los factores se clasifican Rh negativas. Las personas Rh negativas forman anticuerpos contra el factor Rh, si están expuestas a sangre Rh positiva.

Seleccionar reactivos (medios de reacción) son de vital importancia para detectar a los dos elementos importantes en la inmunohematología como son los antígeno y los anticuerpos.

La reacción de aglutinación es la más representativa para demostrar la presencia de estos componentes, la avidez, la estabilidad, la especificidad y la sensibilidad son lineamientos que deben ser considerados para poder expresar y cuantificar al componente específico que guíe al médico tratante en su diagnóstico y tratamiento en especial a las mujeres multíparas (varias gestaciones) que podrían transmitir al feto y desarrollar en el recién nacido las incompatibilidades de grupos sanguíneos.

SUMMARY

The study of blood includes assessing alterations of its components in form, quantity, functions. But the study of this vital component to compensate any of its components through specialized studies within the field of Immunohematology. A blood group system consists of antigens produced both directly and indirectly. Later they found another group of antigens called Rhesus factor (Rh factors) because they were discovered during experiments on Rhesus monkeys. People with Rhesus factors in their blood are classified as Rh positive, while those without the factors are classified RH negative. Rh negative people form antibodies against the Rh factor, if exposed to Rh positive blood.

Select reagents (reaction mass) are of vital importance to detect two important elements such as the immuno-antigen and antibody. The agglutination is the most representative to demonstrate the presence of these components, avidity, stability, specificity and sensitivity are guidelines that must be considered to express and quantify the specific component to guide the physician in diagnosis and special treatment in multiparous women (multiple pregnancies) that could convey to the developing fetus and the newborn blood group incompatibilities.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO I.....	3
1. PROBLEMATIZACIÓN.....	3
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	4
1.3. OBJETIVOS	4
1.3.1. OBJETIVO GENERAL.....	4
1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
1.4. JUSTIFICACIÓN	5
CAPITULO II.....	7
2. MARCO TEÓRICO	7
2.1 POSICIONAMIENTO PERSONAL	7
2.2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	7
2.2.1. Sangre.....	7
2.2.2. Concepto	7
2.2.3 Funciones de la sangre	8
2.2.4. Elementos	10
2.2.4.2. Valores normales de los elementos de la sangre.....	14
2.2.4.4Tiempo de vida de las células sanguíneas.	16
2.2.5. PRINCIPIOS DE INMUNOHEMATOLOGÍA	17
2.2.5.1 ANTICUERPOS.....	17
2.2.5.2 ANTÍGENOS	19
2.2.5.3 RESPUESTA INMUNE	20
2.2.5.4 ANTICUERPOS "NATURALES" E INMUNES.....	21
2.2.5.5 REACCIONES ANTÍGENO-ANTICUERPO ERITROCITARIAS.....	22
2.2.6. MEDIOS DE REACCIÓN	29
2.2.6.1 SOLUCIÓN SALINA FISIOLÓGICA	29
2.2.6.2 SOLUCIONES DE ALBÚMINA BOVINA.....	29
2.2.6.3 SOLUCIONES DE ENZIMAS PROTEOLÍTICAS	30
2.2.6.4 SOLUCIONES DE BAJA FUERZA IÓNICA (LISS)	31
2.2.7 SISTEMAS DE GRUPOS SANGUÍNEOS	32
2.2.7.1 SISTEMA DE GRUPOS SANGUÍNEOS ABO	32
2.2.7.2 DEMOSTRACIÓN IN VITRO DE LOS GRUPOS SANGUÍNEOS ABO.....	34
2.2.7.3 DETERMINACIÓN ABO EN PLACA	36
2.2.7.4 DETERMINACIÓN ABO EN TUBO	40
2.2.7.5 CAUSAS DE ERRORES DE LA TÉCNICA	44
2.2.7.6 SISTEMA Rh	47
2.2.7.7 DETERMINACIÓN EN PLACA.....	48
2.2.7.8 DETERMINACIÓN Rh EN TUBO	50
2.2.7.9 CAUSAS DE ERROR DE LA TÉCNICA	51
2.2.8 GENÉTICA BÁSICA DEL SISTEMA Rh.....	54
2.2.8.1 IMPORTANCIA DE LA COMPATIBILIDAD RhD.....	54
2.2.8.2. ANTÍGENO Rh D ^u	55
2.2.8.3 CONSERVACIÓN DE LOS ANTISUEROS Y GLÓBULOS ROJOS	57
2.2.9. TITULACIÓN DEL SUERO ANTI- CDE.....	58
2.2.10 CONTROL DE CALIDAD	64

2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS.....	67
2.4. HIPÓTESIS Y VARIABLES	69
2.4.1 HIPÓTESIS	69
2.4.2 VARIABLES	69
2.5. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....	70
CAPITULO III.....	71
3. MARCO METODOLÓGICO.....	71
3.1. MÉTODO.....	71
3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA	71
3.2.1 POBLACIÓN	71
3.2.2. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS	71
3.3. TÉCNICAS PARA EL PROCEDIMIENTO DE LA INFORMACIÓN.....	71
CAPITULO IV	78
4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	78
CONCLUSIONES.....	78
RECOMENDACIONES	79
BIBLIOGRAFÍA	88

ÍNDICE DE GRÁFICOS

FIG. 1. SANGRE.....	7
FIG. 2. FUNCIÓN RESPIRATORIA	8
FIG. 3. FUNCIÓN NUTRITIVA	8
FIG. 4. FUNCIÓN EXCRETORA	9
FIG. 5. FUNCIÓN DEFENSIVA.....	10
FIG. 6. ELEMENTOS DE LA SANGRE.....	10
FIG. 7. GLÓBULOS ROJOS	11
FIG. 8. GLÓBULOS BLANCOS	12
FIG. 9. PLAQUETAS O TROMBOCITOS	12
FIG. 10. PLASMA SANGUÍNEO	13
FIG. 11. GLÓBULOS ROJOS O HAMATÍES.....	14
FIG. 12. GLÓBULOS BLANCOS O LEUCOCITOS	15
FIG. 13. PLAQUETAS	16
FIG. 14. ANTICUERPOS	17
FIG. 15. ANTICUERPOS Ig G	18
FIG. 16. ANTICUERPO Ig M	19

FIG. 17. ANTÍGENOS	19
FIG. 18. RESPUESTA INMUNE	20
FIG. 19. REACCIÓN ANTÍGENO – ANTICUERPO	22
FIG. 20. REACCIÓN DE AGLUTINACIÓN	22
FIG. 21. AGLUTINACIÓN DIRECTA	25
FIG. 23. AGLUTINACIÓN INDIRECTA	26
FIG. 24. SOLUCIÓN SALINA FISIOLÓGICA	29
FIG. 25. SOLUCIÓN DE ALBUMINA BOVINA.....	29
FIG. 26. SOLUCIÓN DE ENZIMAS PROTEOLITICAS.....	30
FIG. 27. SOLUCIÓN DE BAJA FUERZA IÓNICA.....	31
FIG. 28. CAGA IÓNICA	31
FIG. 29. SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO	32
FIG. 30. SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO ABO	33
FIG. 31. DETERMINACIÓN ABO EN PLACA.....	36
FIG. 32. DETERMINACIÓN ABO EN PLACA.....	36
FIG. 33. DETERMINACIÓN ABO EN PLACA.....	37
FIG. 34. DETERMINACIÓN ABO EN PLACA.....	37
FIG. 35. DETERMINACIÓN ABO EN PLACA.....	37
FIG. 36. DETERMINACIÓN ABO EN PLACA.....	38
FIG. 37. DETERMINACIÓN ABO EN PLACA.....	38
FIG. 38. DETERMINACIÓN ABO EN PLACA.....	38
FIG. 39. DETERMINACIÓN ABO EN PLACA.....	39
FIG. 40. DETERMINACIÓN ABO EN PLACA.....	39
FIG. 41. DETERMINACIÓN ABO EN PLACA.....	39
FIG. 42. DETERMINACIÓN ABO EN PLACA.....	40
FIG. 43. DETERMINACIÓN ABO EN PLACA.....	40
FIG. 44. INTENSIDAD DE REACCIÓN.....	41
FIG. 45. DETERMINACIÓN ABO EN TUBO.....	42
FIG. 46. DETERMINACIÓN ABO EN TUBO.....	42
FIG. 47. DETERMINACIÓN ABO EN TUBO.....	43
FIG. 48. DETERMINACIÓN ABO EN TUBO.....	43
FIG. 49. PRUEBA INVERSA	46
FIG. 50. PRUEBA INVERSA	46
FIG. 51. SISTEMA RH	47
FIG. 52. DETERMINACIÓN EN PLACA DEL GRUPO RH	48
FIG. 53. DETERMINACIÓN EN PLACA DEL GRUPO RH	49
FIG. 54. DETERMINACIÓN EN PLACA DEL GRUPO RH	49
FIG. 55. DETERMINACIÓN EN PLACA DEL GRUPO RH	49
FIG. 56. DETERMINACIÓN EN TUBO DEL GRUPO RH.....	50
FIG. 57. DETERMINACIÓN EN TUBO DEL GRUPO RH.....	50
FIG. 58. DETERMINACIÓN EN TUBO DEL GRUPO RH.....	51
FIG. 59. REACCIÓN DE AGLUTINACIÓN	51
FIG. 60. FORMACIÓN DE PILAS DE MONEDAS	52
FIG. 61. AGLUTINACIÓN VERDADERA (VISTA MICROSCÓPICA)	52

FIG. 62. ÁRBOL FAMILIAR QUE MUESTRA QUE DOS PROGENITORES D POSITIVOS PUEDEN TENER UN HIJO D NEGATIVO	54
FIG. 63. ANTÍGENO RH DU	55
FIG. 64. CONSERVACIÓN DE ANTISUEROS.....	57
FIG. 65. ENFERMEDAD HEMOLÍTICA DEL RECIÉN NACIDO	59
FIG. 66. SUERO FISIOLÓGICO	60
FIG. 67. ALBUMINA BOVINA	60
FIG. 68. HEMATÍES TIPADOS	61
FIG. 69. ANTISUERO CDE	61
FIG. 70. DILUCIONES DEL ANTISUERO CDE	62
FIG. 71. DILUCIONES DEL ANTISUERO CDE	63
FIG. 72. REACCIÓN DE AGLUTINACIÓN	64
FIG. 73. CONTROL DE CALIDAD DE LOS REACTIVOS	64
FIG. 74. CALIDAD DE TÉCNICAS.....	65
FIG. 75. SOLUCIÓN DE BAJA FUERZA IÓNICA.....	66

INTRODUCCIÓN

La relación del ser humano con el medio ambiente y su entorno natural tiene suprema importancia desde el punto de vista médico, puesto que los múltiples factores influyen decididamente en el estado de salud del individuo.

El conjunto de genes que el padre y la madre aportan al momento de la concepción constituyen el patrimonio hereditario del nuevo ser que le otorga características tales como el color de pelo, el grupo sanguíneo, etc. Entre todas las características hereditarias también pueden transmitir enfermedades o patologías muy graves, algunas debidas a los genes.

Lo más importante es que la madre debe conocer su grupo sanguíneo y su factor Rh, que le permitirá anticipar posibles incompatibilidad entre la madre y el feto. El grupo sanguíneo y factor Rh del padre permite preveer incompatibilidades de la sangre entre madre e hijo; si los progenitores son de factor Rh negativo, el producto de la concepción será Rh negativo y no presentará problema alguno, si en caso contrario el padre es Rh positivo y la madre Rh negativo; puede generarse incompatibilidad sanguínea entre la madre y el feto. Los riesgo de que los hijos se vean afectados por enfermedades de tipo hereditario se multiplican por cuatro cuando los futuros padres son consanguíneos, es decir del mismo grupo y factor sanguíneo. Con estos conocimientos se podrá evitar de la presencia de anticuerpos irregulares en las futuras madres.

Los anticuerpos (Ac) irregulares se producen frente a un estímulo antigénico, tales como: la incompatibilidad feto-materna, transfusiones sanguíneas o inmunizaciones; provocando una sensibilización a nivel de los hematíes o en el peor de los casos produciendo reacciones inmediatas o tardías. La identificación de esta generación de anticuerpos irregulares, se da gracias a los eminentes avances científicos y tecnológicos que hoy en día pueden ser detectados a nivel de

laboratorio, específicamente realizando la prueba o test más utilizado como es el Test de Coombs en los servicios del Banco de Sangre.

El propósito general del presente trabajo tiene como un objetivo adicional valorar la importancia de la selectividad de reactivos o llamados también medios de reacción a través de un control de calidad interno, que se basa en buscar titulaciones e intensidad de la reactividad mediante de la reacción de aglutinación, acción que debe ser ejecutada por todos los laboratoristas a cargo de las pruebas inmunohematológicas.

Dentro del primer capítulo, en lo que se refiere al Marco Referencial hacemos mención al planteamiento del tema de estudio como una importancia y necesidad de buscar medios accesibles que está al alcance de todo laboratoristas que hace inmunohematología, buscando alternativas y selectividad apropiada de reactivos que permitan un estudio concreto, específico y de alta calidad en los análisis de antígenos y anticuerpos.

Se menciona el objetivo general y específicos que permitan guiar al estudio en las conclusiones y recomendaciones

En el segundo capítulo, encontramos el Marco Teórico, en el que consta una guía que permite entender a la sangre como un liquido vital a través de sus componentes, funciones y alteraciones, basados en un glosario de términos para que el lector tenga una fácil comprensión de la valoración y control de reactividad de los medios de reacción.

En lo que se refiere al tercer capítulo, hallaremos conclusiones a las que hemos llegado en base al planteamiento de objetivos específicos que permitirán llegar a las recomendaciones necesarias, basadas y demostradas mediante una interpretación de cuadros y bases estadísticas.

CAPITULO I

1. PROBLEMATIZACIÓN

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Partiendo de que en el mundo no existe laboratorio ciento por ciento seguro, la búsqueda científica y tecnológica en mejorar la calidad de vida y de salud, busca mejorar todos los elementos que involucra los análisis de laboratorio, para que el único beneficiado sea el paciente, y sus familiares. El prestigio del médico, de los laboratoristas y de las empresas que ofertan equipos, suministros y reactivos están ligados a una alta competitividad.

Introducir un sistema de calidad interno en el laboratorio es parte de una rutina de trabajo, es por ello que todo reactivo y medio de reacción debe pasar este control que debe ser implementado por todo laboratorio

Denominamos Anticuerpos Irregulares, aquellos que se producen frente a un Estímulo Antigénico. Son anticuerpos que generalmente aparecen por un estímulo transfusional o feto-materna que pueden producir reacciones inmediatas o tardías.

La presencia de estos anticuerpos irregulares en mujeres en período de gestación y su desconocimiento en la misma, aumenta el riesgo de ocasionar sufrimiento y en muchos de los casos muerte fetal.

Para que esto no ocurra, en nuestra actualidad y nuestro entorno se ha creado una variedad de pruebas que ayudan a determinar la presencia oportuna de antígenos y anticuerpos y evitar consecuencias fatales.

La identificación de los anticuerpos en general, es de gran importancia en el diagnóstico y tratamiento de las Enfermedades Hemolíticas del Recién Nacido (EHRN).

Es por ello que es importante valorar la intensidad de reactividad de antisueros que serán empleados en el análisis inmunohematológico en mujeres multíparas para determinar la presencia o ausencia de antígenos que estimularían al sistema inmunológico con la producción de anticuerpos irregulares.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Cuál es la importancia de la utilización del antisuero CDE como control de calidad en la identificación de los fenotipos del sistema Rh en mujeres de edad fértil atendidas en el banco de sangre de Riobamba, durante el periodo de enero a junio del 2010?

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

“Valorar la importancia de la utilización del antisuero CDE como control de calidad en la identificación de los fenotipos del sistema Rh en mujeres de edad fértil atendidas en el banco de sangre de Riobamba, durante el periodo de enero a junio del 2010

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Valorar la importancia de las funciones y componentes de la sangre.

- Evaluar los distintos medios de reacción e identificar el más apropiado mediante la reactividad, especificidad y estabilidad de resultados.
- Considerar la utilización de los antisueros CDE como control de calidad en la identificación de los fenotipos el sistema Rh en mujeres fértiles con el único fin de evitar enfermedades la aloinmunización es la etapa más importante de una mujer en la procreación.

1.4. JUSTIFICACIÓN

La función del Laboratorista Clínico es apoyar, al medico mediante la realización de exámenes y pruebas clínicas, que servirán de base para que el facultativo, sustente el diagnostico y tratamiento. La incompatibilidad feto-materna, transfusiones sanguíneas o inmunizaciones son factores que provocan la sensibilización o reacción de los hematíes, el mismo que gracias a los eminentes avances científicos y tecnológicos pueden ser detectados a nivel de laboratorio, específicamente realizando la prueba o test más utilizado como es la prueba de Coombs en los servicios Transfusionales.

La presente investigación la justificamos, partiendo de su actualidad, ya que el quehacer técnico personalizado constituye una gran herramienta de experimentación con el único propósito de llegar a la excelencia tecnológica.

Indudablemente con esta investigación se lograra la implementación de controles de calidad que involucra la participación tecnológica y humanística.

Aquí las beneficiadas serán las futuras madres, con la eficiencia de los resultados y función del laboratorista, ya que con la aplicación de técnicas que valoren la correcta reactividad de los antisueros, que son empleados en la determinación de los fenotipos del sistema Rh, esto permitirá evitar incompatibilidad feto-materna, y una posterior enfermedad que en algunos casos puede provocar la muerte fetal y del recién nacido conocido como Eritroblastosis fetal. Para lograr estos

resultados existe el respaldo del tutor que imparte sus conocimientos, experiencias y orienta el trabajo a realizar. Tenemos una autogestión en cuanto al desarrollo investigativo del proyecto de tesina.

Pensamos que con la culminación de esta investigación llegaremos a constituir un plan piloto que tendrá trascendencia no solamente en una institución de salud sino en todo el país, consideramos que la salud actual es un problema urgente de resolver, para esto es preciso capacitar a los que manejan esta área y modificar el sistema de control de calidad de todos los centros que brinden atención medica en todas sus ramas.

CAPITULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1 POSICIONAMIENTO PERSONAL

El presente trabajo está elaborado en consideración como teoría del conocimiento al pragmatismo ya que este mencionado vincula teoría con la práctica.

2.2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.2.1. Sangre



Fig. 1. Sangre

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

2.2.2. Concepto

La sangre es un líquido rojo único, claro (arterial) u oscuro (venoso), de composición variable, que circula a través de los vasos sanguíneos del organismo, con un volumen total aproximado de 30ml/Kg. de peso.

La sangre además es un tejido líquido que recorre el organismo transportando células, y todos los elementos necesarios para realizar sus funciones vitales (respirar, formar sustancias, defenderse de agresiones) y todo un conjunto de funciones muy complejas y muy importantes para la vida.

La cantidad de sangre de una persona está en relación con su edad, peso, sexo y altura, una persona adulta se puede considerar que tiene entre 4,5 y 6 litros de sangre.

2.2.3 Funciones de la sangre

La sangre realiza múltiples funciones. De todas ellas las más importantes son las siguientes:

- **Función Respiratoria**



Fig. 2. Función Respiratoria

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

La sangre transporta el oxígeno (O_2) desde los pulmones hasta las células de los distintos tejidos, y el anhídrido carbónico o dióxido de carbono (CO_2) desde éstas hasta los pulmones, donde es eliminado. Esta función de transporte gaseoso.

- **Función Nutritiva**

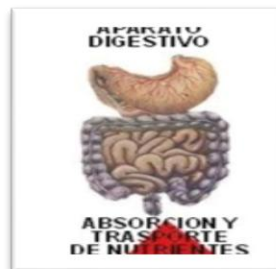


Fig. 3. Función nutritiva

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

La sangre conduce las sustancias nutritivas, absorbidas tras la digestión y procedentes de los alimentos, hasta las células que las precisan.

- **Función de regulación hormonal**

La sangre transporta las diversas secreciones hormonales desde las glándulas que las producen hasta los órganos donde actúan (órganos blanco).

- **Función excretora**

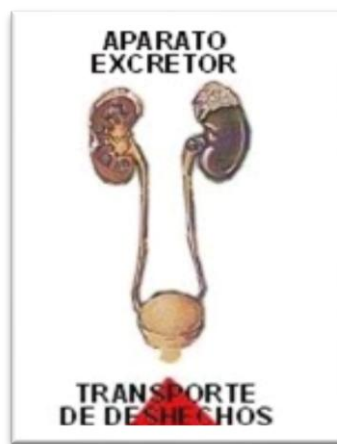


Fig. 4. Función Excretora

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

La sangre conduce los productos de desecho resultantes del catabolismo celular hasta los órganos donde son eliminados y que son, fundamentalmente, los riñones.

- **Función de regulación térmica.**

La sangre distribuye el calor a lo largo de todo el organismo.

- **Función del mantenimiento del pH.**

La sangre colabora en el mantenimiento del equilibrio existente en el organismo entre sustancias de naturaleza ácida y las sustancias de naturaleza alcalina (o

básica), y por tanto conserva constante el pH corporal. El pH plasmático normal es aproximadamente de 7,4

- **Función defensiva**

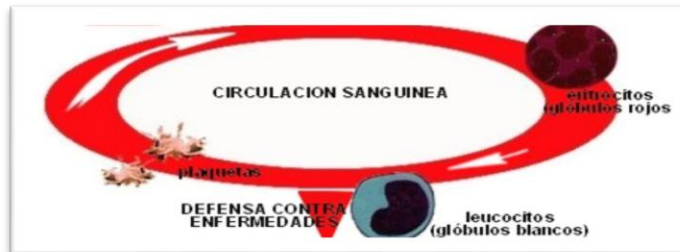


Fig. 5. Función defensiva

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

La sangre protege al organismo de las infecciones. Esta función es desempeñada por los leucocitos y por algunas sustancias presentes en el plasma (anticuerpos y componentes del complemento). Los anticuerpos son producidos por los linfocitos B, para la defensa del organismo.

- **Función hemostática**

Cuando se produce una lesión de los vasos sanguíneos, la sangre detiene sus propias pérdidas. Esto se produce mediante el llamado fenómeno de la hemostasia. En la hemostasia intervienen las plaquetas y diversas sustancias denominadas genéricamente factores de la coagulación (fibrinógeno, protrombina, etc.).

2.2.4. Elementos

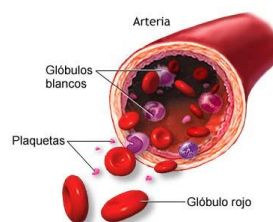


Fig. 6. Elementos de la sangre

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

En la sangre se distinguen dos fracciones: fracción forme y fracción líquida. La fracción forme está constituida por elementos que tienen una forma definida. En concreto está compuesto por tres tipos distintos de células: Glóbulos rojos, Glóbulos blancos y plaquetas.

- La fracción líquida formada por plasma sanguíneo.

2.2.4.1. Elementos Formes

- **GLÓBULOS ROJOS, HEMATÍES O ERITRÓCITOS.**



Fig. 7. Glóbulos rojos

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

El eritrocito es una unidad madura del eritrón (células hemáticas circulantes y sus precursores de la médula ósea). El eritrocito humano es un disco circular, elástico, bicóncavo, eosinófilo y carente de núcleo.

Son las células sanguíneas más numerosas y la hemoglobina que contienen es la responsable de su color rojo.

Se forman en la médula ósea, la misma que se halla dentro de los huesos del esqueleto, desde donde son liberados en el torrente sanguíneo. Cuando los hematíes son destruidos, la hemoglobina se transforma en bilirrubina, de color amarillento, y ésta se elimina fundamentalmente por el hígado a través de la bilis.

- **GLÓBULOS BLANCOS O LEUCOCITOS.**

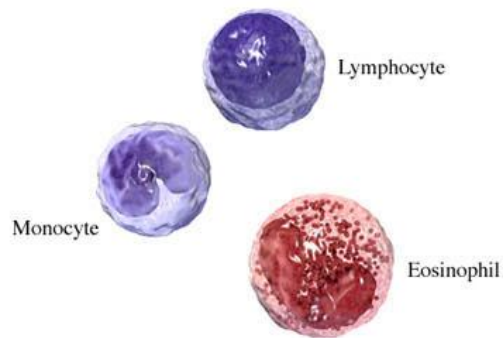


Fig. 8. Glóbulos Blancos

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

Son las células sanguíneas (células hemáticas blancas) más grandes, tienen núcleo cuyo diámetro es de 8 a 12m y que se halla tanto en la médula ósea como en sangre periférica.

Hay dos clases fundamentales de leucocitos, unos tienen gránulos en su interior, por lo que se llaman granulocitos, y los otros carecen de gránulos en su interior, por lo que se denomina agranulocitos.

A su vez, se distinguen tres tipos de granulocitos (neutrófilos, eosinófilo y basófilos) y dos tipos de agranulocitos (monocitos y linfocitos).

- **PLAQUETAS O TROMBOCITOS**



Fig. 9. Plaquetas o Trombocitos

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

Las plaquetas son fragmentos morfológicamente irregulares, que se derivan de la porción citoplasmática de los megacariocitos (células madres normalmente situadas en la médula ósea) y no poseen núcleo. Además son las células sanguíneas más pequeñas. Los trombocitos son destruidos por los macrófagos.

- **PLASMA SANGUÍNEO**

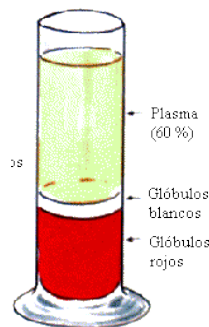


Fig. 10. Plasma Sanguíneo

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

Es un líquido compuesto de agua, proteínas, sales minerales y otras sustancias necesarias para el funcionamiento normal del organismo y en donde se encuentran "nadando" las células sanguíneas.

En condiciones normales, supone más o menos el 55% del volumen total de la sangre.

Es un líquido transparente, de color ambarino y constituido en un 90% por agua. El 10% restante consiste en una serie de sustancias sólidas que se encuentran disueltas en el agua.

Entre éstas cabe destacar:

- Glúcidos (glucosa)
- Lípidos (colesterol, triglicéridos, etc.)
- Proteínas (albúmina, globulinas, fibrinógeno, etc.)

- Electrolitos (iones sodio, potasio, calcio, cloruro, etc.)
- Sustancias reguladoras (vitaminas, enzimas, hormonas)
- Productos de desecho (ácido úrico, urea, creatinina, bilirrubina, etc.)

Al plasma sanguíneo, cuando se le retira el fibrinógeno, se le denomina suero.

2.2.4.2. Valores normales de los elementos de la sangre

- **Glóbulos Rojos, Hematíes o eritrocitos:**

En condiciones normales hay unos 4.8 millones/mm³ en la mujer adulta y 5.4 millones/mm³ en el varón adulto.

- **Glóbulos Blancos o Leucocitos:**

Se encuentran en un número aproximado de 5.000 a 11.000 leucocitos por mm³.

- **Plaquetas o trombocitos:**

Su número normal oscila entre 140.000 y 400.000 plaquetas por mm³ de sangre.

2.2.4.3. Funciones

- **GLÓBULOS ROJOS O HEMATÍES O ERITRÓCITOS**

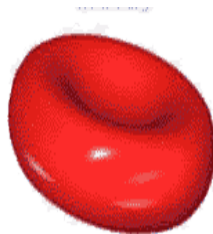


Fig. 11. Glóbulos Rojos o Hamatíes

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

Su función principal es de transportar el oxígeno y dióxido de carbono (asociados a la hemoglobina) desde los pulmones y los distribuye a los diferentes tejidos a través de los capilares, para que las células respiren, y también eliminan los residuos producidos por la actividad celular (anhídrido carbónico).

- **GLÓBULOS BLANCOS O LEUCOCITOS.**

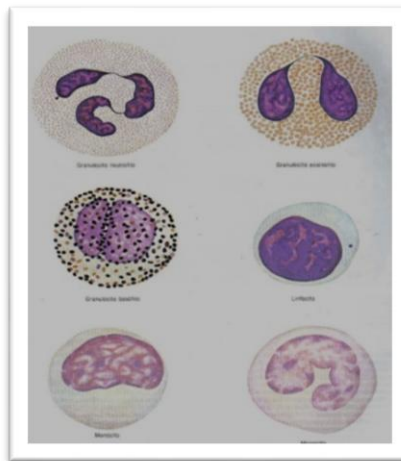


Fig. 12. Glóbulos Blancos o Leucocitos

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

Los leucocitos son los encargados de proteger al organismo contra los diferentes tipos de microbios.

Cuando hay una infección aumentan su número para mejorar las defensas. Unos se forman en la médula ósea y otros en el sistema linfático (bazo, ganglios, etc.).

Los leucocitos son los encargados de destruir los agentes infecciosos y las células infectadas, y también secretar sustancias protectoras como los anticuerpos, combatiendo las infecciones.

- **PLAQUETAS O TROMBOCITOS**



Fig. 13. Plaquetas

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

Las plaquetas sirven para taponar las lesiones que pudieran afectar a los vasos sanguíneos. En el proceso de coagulación (hemostasia), las plaquetas contribuyen a la formación de los coágulos (trombos), así son las responsables del cierre de las heridas vasculares.

2.2.4.4Tiempo de vida de las células sanguíneas.

- **GLÓBULOS ROJOS O HEMATÍES O ERITRÓCITOS**

Tienen una vida media de 80 a 120 días y son destruidos, al cabo de ese tiempo, por los macrófagos del SER.

- **GLÓBULOS BLANCOS O LEUCOCITOS**

Los linfocitos pueden tener una vida muy prolongada; de hecho, algunos sobreviven muchos años.

En la sangre periférica, los leucocitos están compuestos, principalmente, por células polimorfo nucleares (con un promedio de vida de 3 a 4 días), linfocitos (con un promedio de vida, aproximadamente, 4.4 años o más), monocitos (vida media de unos 2 días a 2 semanas) y, en ocasiones, células plasmáticas (con una larga duración de vida que no se conoce exactamente)

- **PLAQUETAS O TROMBOCITOS**

Su vida media es de unos 8 a 11 días

(10.- PLATT, William: Atlas de Hematología en Color. Editorial JIMs. 1982. Barcelona-España).

2.2.5. PRINCIPIOS DE INMUNOHEMATOLOGÍA

El término 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 sangre y de sus componentes; patogenia, diagnóstico, prevención y tratamiento de la inmunización (sensibilización) relacionada con el embarazo; pruebas leucocitarias para el trasplante de órganos, y resolución analítica de los problemas de paternidad.

2.2.5.1 ANTICUERPOS

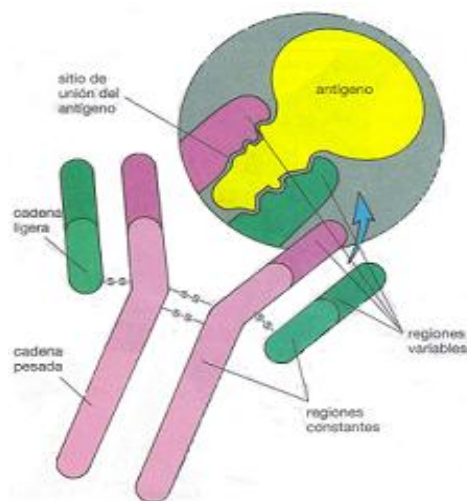


Fig. 14. Anticuerpos

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

Un anticuerpo es un producto de la respuesta inmune que reacciona con el antígeno correspondiente en forma observable.

Los anticuerpos son inmunoglobulinas (Ig) y se encuentran en la fracción gammaglobulina de las proteínas plasmáticas. Existen cinco categorías de inmunoglobulinas: IgG, IgM, IgA, IgD e IgE. Este módulo se centra en las IgG e IgM. (Ver anexo 1.0)

Los anticuerpos son proteínas integradas por cadenas de aminoácidos unidas por puentes peptídicos.

Los anticuerpos IgG poseen cuatro cadenas, dos pequeñas o "livianas" y dos más grandes o "pesadas". Por contraste, los IgM se componen de 10 cadenas livianas y 10 pesadas.

- **ANTICUERPOS Ig G**



Fig. 15. Anticuerpos Ig G

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

Los anticuerpos Ig G constituyen alrededor del 73% de las inmunoglobulinas totales. Tienen un peso molecular de sólo 150.000. Por su tamaño, atraviesan con facilidad la placenta y en consecuencia, a menudo se asocian a un cuadro denominado enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN). Este problema

tiene lugar cuando los anticuerpos maternos cruzan la placenta y atacan a los eritrocitos fetales que poseen los antígenos correspondientes. Los anticuerpos Ig G no causan aglutinación de los glóbulos rojos antígenicos suspendidos en solución salina; sólo los recubren y sensibilizan. La sobrevivencia de la Ig G es de 60 - 70 días.

- **ANTICUERPOS IG M**

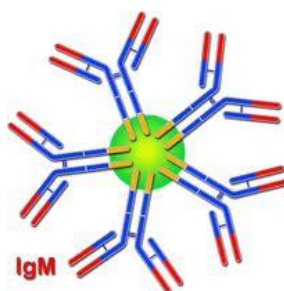


Fig. 16. Anticuerpo Ig M

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

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

2.2.5.2 ANTÍGENOS



Fig. 17. Antígenos

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

Se llama Antígeno (Ag) o inmunógeno a todas las moléculas capaces de inducir una respuesta inmune, pudiendo reaccionar con los anticuerpos (Ac) formados.

Suelen ser moléculas de gran tamaño, generalmente de estructura proteica, con varios epítopes o fragmentos que son reconocidos específicamente por los anticuerpos.

Los Haptenos son moléculas de menor tamaño, que por sí solos no pueden provocar una respuesta inmune, pero que asociadas a una molécula transportadora inmunogénica pueden reaccionar con los anticuerpos formados.

- **EPÍTOPES Y DETERMINANTES ANTIGÉNICOS**

Fragmentos o espacios de los Ag para ser reconocidos por el Ac. Los epítopes son fragmentos de la molécula del antígeno (Ag), generalmente estructuras de superficie, reconocidos específicamente por los anticuerpos. Hay regiones de la molécula de Ag que presentan varios epítopes cercanos, y se llaman **determinantes antigénicos**. En general los Ag presentan varios determinantes antigénicos, de modo que se producen Ac específicos para cada uno de ellos

2.2.5.3 RESPUESTA INMUNE

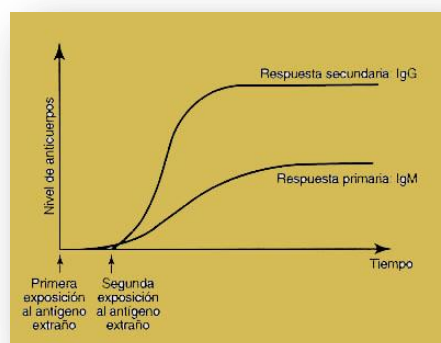


Fig. 18. Respuesta Inmune

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

Cuando el organismo se expone por primera vez a un antígeno extraño, monta una respuesta primaria. Esta se desarrolla con lentitud y podrían pasar varios meses hasta la aparición de anticuerpos detectables. El segundo contacto con el mismo antígeno determina una respuesta secundaria. Esta es mucho más espectacular y en general, se sintetizan concentraciones considerables de anticuerpos en poco tiempo. La respuesta primaria a menudo se asocia a niveles bajos de Ig M, mientras que en la secundaria predomina la Ig G.

2.2.5.4 ANTICUERPOS "NATURALES" E INMUNES.

Si analizamos el suero de una persona normal, encontramos anticuerpos de grupo sanguíneo ABO. Por contraste, el suero del cordón umbilical o del recién nacido revela concentraciones mínimas o nulas de anticuerpos de este tipo. No obstante, si examinamos el suero del lactante 12-20 semanas más tarde, observamos títulos moderados. Estos aparecen sin inmunización obvia del bebé con antígenos de grupo sanguíneo A o B. Por lo tanto, estos anticuerpos se consideran naturales, es decir, que surgen en ausencia de un estímulo antigénico conocido.

Como ya se dijo, los anticuerpos se sintetizan como resultado del ingreso de un antígeno, de modo que el término "natural" podría crear confusión. Ahora se sabe que los virus, bacterias y muchos alimentos poseen antígenos AB muy similares a los de los grupos sanguíneos humanos.

Es así que estos anticuerpos "naturales" se deben a antígenos que entran al organismo y promueven la respuesta adecuada, casi siempre de tipo Ig M. Los anticuerpos inmunes de grupo sanguíneo suelen ser Ig G 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.

(5.- BROSTOFF. Jonathan y otros.1994. "Inmunología Clínica").

2.2.5.5 REACCIONES ANTÍGENO-ANTICUERPO ERITROCITARIAS



Fig. 19. Reacción Antígeno – Anticuerpo

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

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 la 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 detectados y estudiados en el laboratorio mediante pruebas específicas.

REACCIÓN DE AGLUTINACIÓN

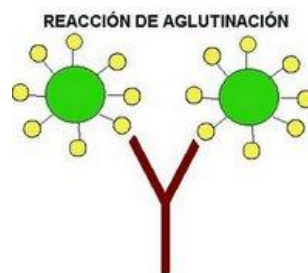


Fig. 20. Reacción de aglutinación

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

Las reacciones de aglutinación consisten en el agrupamiento de una suspensión de partículas que se debe a la reacción entre un antígeno presente en las partículas (aglutinógeno) y un anticuerpo específico de él (aglutinina).

Las partículas pueden ser vitales o inertes. Como partículas vitales se suelen emplear hematíes y bacterias. Las partículas inertes pueden ser de carbón vegetal, látex, gelatina, etc.

Si la partícula utilizada en la aglutinación es un hematíe, se dice que es una reacción de hemaglutinación.

El aglutinógeno ha de estar presente en la partícula de una forma apreciable y tiene que estar situado superficialmente. Además, debe poseer múltiples epitopes.

Las aglutininas completas son aquellas que siempre producen aglutinación, mientras que las incompletas son las que, a pesar de reaccionar con el antígeno, no producen aglutinación cuando están en una situación desfavorable (por ejemplo, cuando el antígeno particulado es una suspensión de hematíes en disolución salina).

Debido a su tamaño y a su multivalencia, las aglutininas completas son Ig M, mientras que las aglutininas incompletas son Ig G, al ser solo bivalentes.

Para que la reacción de aglutinación se produzca correctamente, es preciso que la concentración de aglutinación no sea excesiva con respecto a la de la aglutinina y viceversa. En caso contrario se verificara el llamado fenómeno de zona y se obtendrá un resultado falsamente negativo.

Otro factor que influye en la reacción de aglutinación es la temperatura. Aunque la mayoría de estas reacciones se efectúa correctamente a temperatura ambiente (unos 20°C), los aglutinógenos bacterianos suelen reaccionar mejor con su aglutinina correspondiente a 37°C, e incluso algunas aglutininas reaccionan de una forma óptima con su aglutinógeno a 4°C (aglutininas frías o crioaglutininas).

CARACTERISTICAS DE LA REACCION Ag-Ac

ESPECÍFICIDAD

Capacidad del anticuerpo de unirse al antígeno que lo estimuló. La unión dada por la especificidad es muy precisa y permite distinguir entre grupos químicos con diferencias mínimas a pesar de su similitud., además permite detención de un solo Ag en cuestión.

RAPIDEZ

La velocidad con que ocurre la primera etapa de la reacción Ag-Ac es del orden de milésimas de segundo, y está limitada únicamente por la difusión. La segunda etapa, que es más larga, incluye todas las manifestaciones que se presentan como consecuencia de la interacción, tales como precipitación, aglutinación, neutralización, etcétera.

ESPONTANEIDAD

La reacción Ag-Ac no requiere energía adicional para efectuarse .

REVERSIBILIDAD

Dado que la reacción se debe a fuerzas no covalentes, es reversible y, en consecuencia, se ve afectada por factores como la temperatura, la proporción de Ag-Ac, el pH y la fuerza iónica.

TIPOS

DIRECTA

Las pruebas de aglutinación directa o activa son aquellas en las que la aglutinina

reacciona con un aglutinógeno presente de una forma natural en la superficie de un tipo de células. Tra esta reacción se forma una especie de puente de unión entre las células, produciéndose la aglutinación.

Un ejemplo de este tipo de pruebas es la aglutinación que se origina al poner en contacto hematíes del grupo A con suero anti-A.

Hay tres formas de facilitar la aglutinación cuando la aglutinina es un anticuerpo incompleto:

- La primera consiste en aumentar la viscosidad del medio en el que se encuentran las células. Esto se consigue añadiendo a este sustancias como la seroalbumina bovina al 30%.
- La segunda se basa en eliminar los residuos negativos de ácido sialico de la membrana celular. Esto se alcanza exponiendo las células a la acción de enzimas como la tripsina, la papaína, la bromelina o la ficina.
- Y la tercera se asienta en la disminución de la fuerza iónica del medio que circunda los hematíes, haciendo que este contenga alguna sustancia del tipo de la solución de baja fuerza iónica (por ejemplo, LISS).

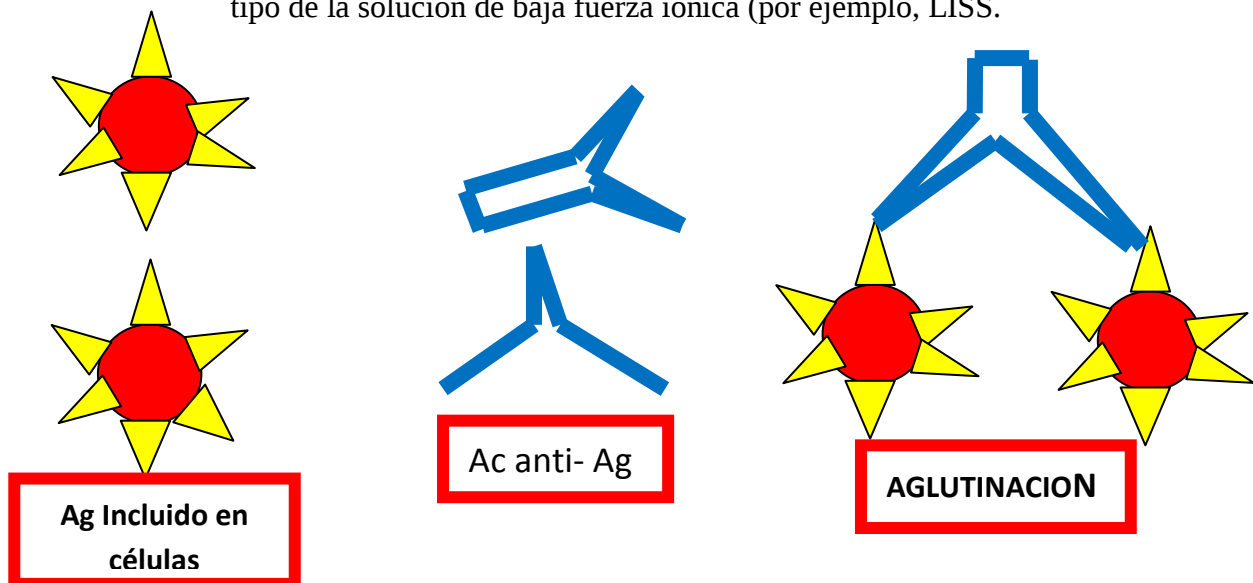


Fig. 21. Aglutinación directa

Elaborado por: Silvana Ortega y Carina Palacios

INDIRECTA

Las pruebas de aglutinación indirecta o pasiva son aquellas en las que la aglutinación reacciona con un aglutinógeno que ha sido transferido pasivamente a la superficie de una partícula vital o inerte.

Un ejemplo de este tipo de pruebas es la aglutinación que se genera al poner en contacto un suero problema que contiene aglutininas anti-toxoplasma con hemáties de cordero que han sido recubiertos con aglutinógenos procedentes de un lisado de toxoplasma.

Al proceso mediante el cual las partículas son recubiertas con aglutinógenos que no les son propios se le denomina sensibilización.

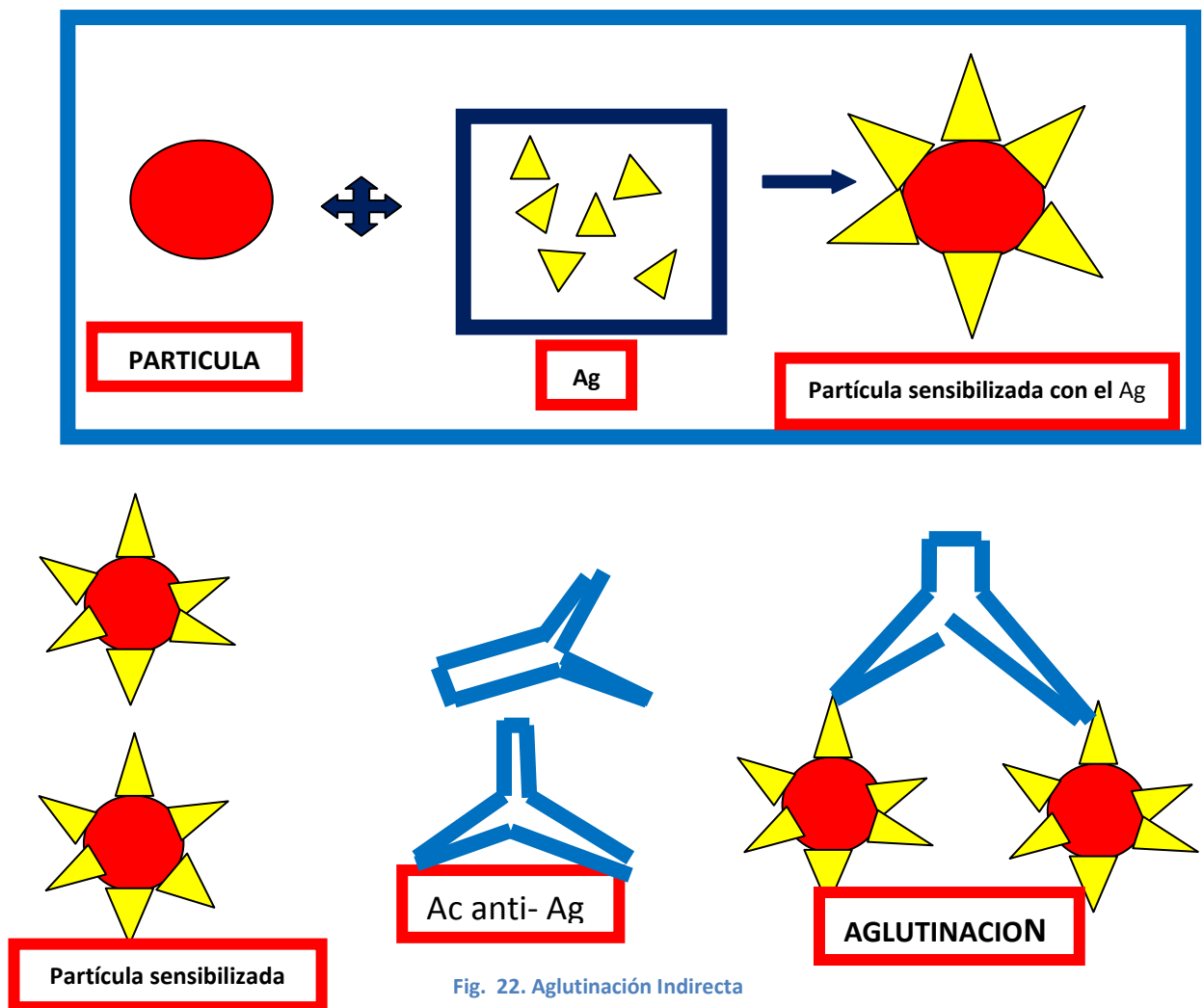


Fig. 22. Aglutinación Indirecta

Elaborado por: Silvana Ortega y Carina Palacios

Si las partículas son visibles, es decir, son células estas pueden ser fijadas mediante sustancias como la formalina, para su almacenamiento durante largos periodos de tiempo. Además hay varios sistemas que facilitan la sensibilización de las células:

- ❖ Uno de ellos consiste en exponer las células a la acción de algunas sustancias, como el ácido tánico, para favorecer la absorción del aglutinógeno a la superficie celular.

Hay una clase especial de prueba de aglutinación indirecta llamada inversa en la que el aglutinógeno está libre en la muestra problema y reacciona con la aglutinina que está fijada a la superficie de la partícula.

Un ejemplo de aglutinación indirecta inversa es la originada al hacer reaccionar el antígeno de superficie de la Hepatitis B contenido en un suero problema, con una suspensión de partículas de látex recubiertas con anticuerpos anti HBsAg. (12.- **Inmunología Editorial Paraninfo**)

2.2.5.6 FACTORES QUE AFECTAN LAS REACCIONES ANTÍGENO ANTICUERPO

CARGA IÓNICA ERITROCITARIA

En el organismo (in vivo) o en un tubo de ensayo (in vitro), los glóbulos rojos nunca contactan entre sí en condiciones fisiológicas normales porque tienen carga eléctrica negativa. Como las cargas iguales se repelen y las opuestas se atraen, los eritrocitos se rechazan y no se tocan. La distancia que los separa es mínima, pero suficiente para evitar que las moléculas pequeñas de Ig G se interpongan entre las células y las aglutinen. Sin embargo, las moléculas de Ig M más grandes, podrían unirlos. En consecuencia, los anticuerpos Ig M pueden provocar aglutinación directa de los glóbulos rojos. Pero los Ig G sólo recubren y sensibilizan.

La carga negativa de los eritrocitos deriva de los grupos de ácido neuramínico de la membrana. La fuerza que mantiene la separación entre las células a veces se denomina "potencial zeta".

TEMPERATURA

Cada anticuerpo tiene su temperatura de reacción preferida. Por ejemplo, los de grupo sanguíneo ABO actúan mejor a 4°C y los Rh, a 37° C.

pH

El pH óptimo de la mayoría de los anticuerpos de grupo sanguíneo es de 6,5 a 7,5.

Cuando el pH es demasiado ácido o demasiado alcalino, las reacciones se inhiben.

ANTIGÜEDAD DEL SUERO Y LOS ERITROCITOS

Las reacciones más satisfactorias se obtienen cuando se emplea suero y eritrocitos frescos. Se aconseja entonces usar glóbulos rojos recién preparados y conservar el suero a -20°C o menos.

PROPORCIÓN ENTRE ANTICUERPOS Y ANTÍGENOS

La proporción entre anticuerpos y antígenos es importante. Cuanto mayor es la concentración de anticuerpos en relación con la de antígenos eritrocitarios, más intensa es la reacción.

Por lo tanto, la potencia de la suspensión de glóbulos rojos es esencial, porque si es excesiva. Podría enmascarar la presencia de anticuerpos débiles. Para las pruebas de aglutinación la cifra más adecuada es del 2 - 4 %.

POTENCIA IÓNICA

Cuando se reduce la potencia iónica del medio en el que suspenden los glóbulos rojos, la reacción antígeno-anticuerpo se acelera.

Si se utiliza solución salina de baja fuerza iónica (SSBFI o LISS), el período de incubación de la prueba antiglobulínica se abrevia a 15 minutos

2.2.6. MEDIOS DE REACCIÓN

2.2.6.1 SOLUCIÓN SALINA FISIOLÓGICA



Fig. 23. Solución Salina Fisiológica

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

Se prepara por disolución de 8,5 g de CINA en 1 litro de agua destilada. Debe utilizarse, a ser posible, recién preparada aunque no es rigurosamente necesario que sea estéril. Se utiliza en general como medio de suspensión de hematíes. Es de fácil preparación en el laboratorio.

2.2.6.2 SOLUCIONES DE ALBÚMINA BOVINA



Fig. 24. Solución de Albumina Bovina

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

Se emplean como medio proteico destinado a potenciar, determinados anticuerpos de grupo sanguíneo. La materia prima es la albúmina obtenida por fraccionamiento del plasma bovino, según métodos industriales bien estandarizados (fraccionamiento salino, fraccionamiento alcohólico, métodos cromatográficos).

Parámetros muy importantes en la preparación de soluciones de albúmina bovina son el pH, la concentración.

Las soluciones de albúmina 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 minutos a 37 c.

2.2.6.3 SOLUCIONES DE ENZIMAS PROTEOLÍTICAS



Fig. 25. Solución de Enzimas Proteolíticas

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

Los anticuerpos de grupo sanguíneo de tipo IgG pueden aglutinar los hematíes si éstos se tratan con soluciones tamponadas de algunas enzimas proteolíticas. Las enzimas que se usan corrientemente en inmunohematología son: tripsina, papaína y bromelina. La ofcina tiene su aplicación limitada por ser tóxica, aunque es la que produce mayor disminución del potencial Zeta.

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 Ag eritrocitarios porque reduce altamente el potencial Z, utiliza un tiempo de incubación de 5 minutos..

2.2.6.4 SOLUCIONES DE BAJA FUERZA IÓNICA (LISS)



Fig. 26. Solución de Baja Fuerza Iónica

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

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

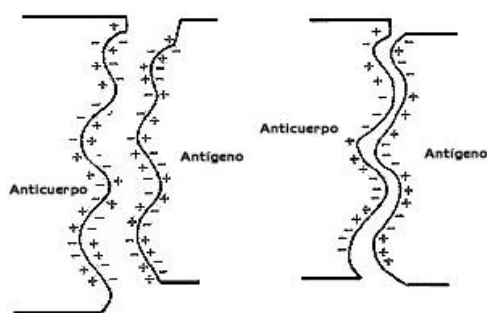


Fig. 27. Carga Iónica

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

Este medio de reacción aumenta la velocidad de asociación y captación entre Ag y Ac. Para evitar el posible deterioro de algunos antígenos hamáticos debido al

medio de baja fuerza iónica, es preciso seguir muy estrictamente las instrucciones que proporciona el fabricante de cada LISS aditivo. Utiliza un tiempo de incubación de 15 minutos, investiga Ac de tipo Ig G e Ig M. (2.- **BELCELLS, Alfonso: La Clínica y el Laboratorio. Ediciones Científicas y Técnicas. 1997. Barcelona-España)**

2.2.7 SISTEMAS DE GRUPOS SANGUÍNEOS

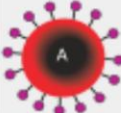
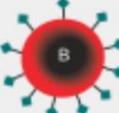
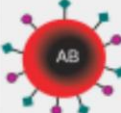
	Grupo A	Grupo B	Grupo AB	Grupo O
Sangre oja célula				
Anticuerpos	 Anti-B	 Anti-A	Ningunos	 Anti-A y Anti-B
Antígenos	A antígeno	B antígeno	A y B antígeno	No antígenos

Fig. 28. Sistema de Grupo Sanguíneo

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

Conjunto de Ag que se van a clasificar dependiendo de la clase o tipo de Ac.

Para un estudio mas adentrado de los grupos sanguíneos se los debe analizar desde el punto de vista del aspecto genético, aspecto bioquímico, aspecto inmunológico, aspecto fisicoquímico.

2.2.7.1 SISTEMA DE GRUPOS SANGUÍNEOS ABO

Los Ag de los grupos sanguíneos son determinantes antigénicos o epítopes. Los Ag de los grupos sanguíneos se conocen gracias a los Ac dirigidos contra ellos.

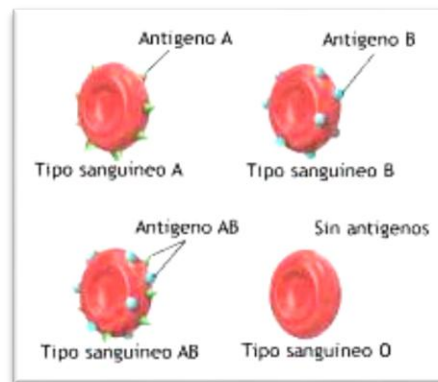


Fig. 29. Sistema de grupo Sanguíneo ABO

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

A principios del siglo XX se llevó a cabo un descubrimiento crucial en medicina transfusional. Karl Landsteiner demostró que cuando se combinaban dos muestras de sangre, en algunos casos se mezclaban sin signos apreciables de reacción, pero en otros se producía aglutinación de los glóbulos rojos. Esta aglutinación se atribuyó a la presencia de antígenos en los glóbulos rojos y anticuerpos en el suero. Más tarde se comprobó que existen dos antígenos eritrocitarios, A y B. En lo que respecta al grupo ABO.

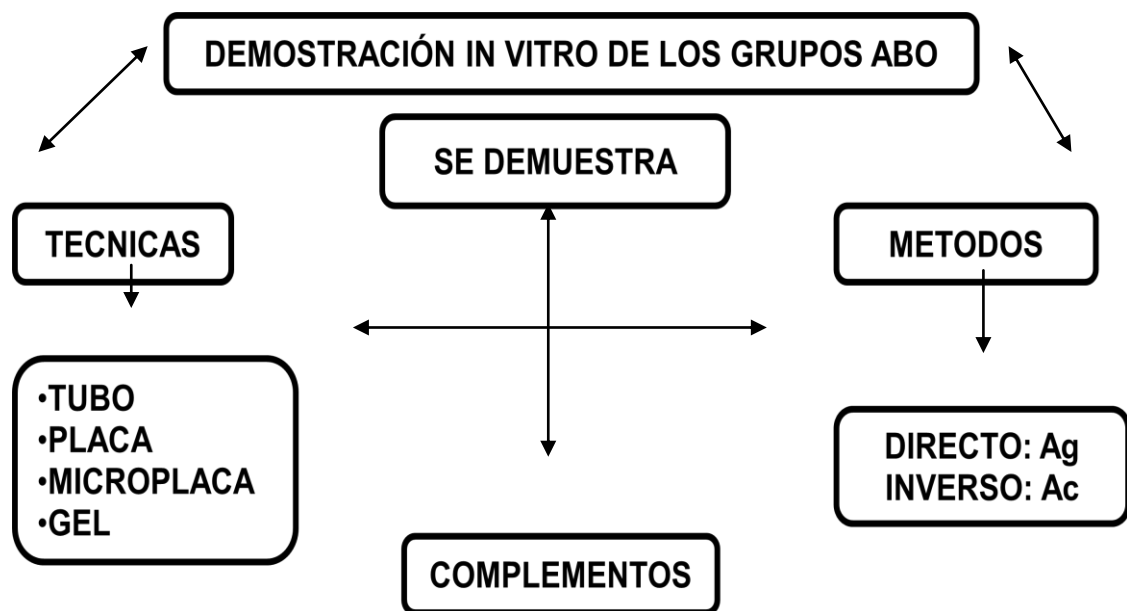
Los eritrocitos que poseen antígeno A, corresponden al grupo A; los que tienen antígeno B, al grupo B, los que cuentan con los dos antígenos, al grupo AB y los que no revelan ninguno, al grupo O.

En el suero se encuentran dos tipos de anticuerpos, anti-A, que reaccionan con los glóbulos rojos del grupo A y anti-B, que aglutina los del grupo B. Los anticuerpos séricos anti A y anti-B varían de acuerdo con los antígenos eritrocitarios:

- Si los glóbulos rojos tienen antígeno A (grupo A), el suero tiene anticuerpos anti-B

- Si los glóbulos rojos tiene antígeno B (grupo B), suero tiene anticuerpos anti-A
- Si los glóbulos rojos tiene antígenos A y B (grupo AB), el suero no tiene anticuerpos anti-A ni anti-B
- Si los glóbulos rojos no tiene antígenos A ni B (grupo O), el suero tiene anticuerpos anti-A y anti-B.

2.2.7.2 DEMOSTRACIÓN IN VITRO DE LOS GRUPOS SANGUÍNEOS ABO



TÉCNICAS DE LABORATORIO

- LAVADO DE CÉLULAS BUFFY COAT (LEUCOCITOS, AGREGADOS Y PLAQUETAS)

MATERIALES

- ❖ Tubos de ensayo
- ❖ Pipeta pasteur
- ❖ Gradilla centrifuga
- ❖ Solución salina (0,9%)

MUESTRAS REQUERIDAS

- Sangre total en estudio

PROCEDIMIENTO

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

SUSPENSIÓN CELULAR AL 5%

- ✓ En un tubo dispensar 19 gotas de solución salina fisiológica y adicionar 1 gota de glóbulos rojos sedimentados.
- ✓ Homogenizar y mantener en refrigeración a 4°C

- **MÉTODO DIRECTO**

Se basa en la aglutinación que se produce en los glóbulos rojos cuando se ponen en contacto con anticuerpos aglutinantes específicos contra los antígenos de superficie.

La presencia de aglutinación indicara que los glóbulos rojos poseen ese determinado antígeno en su superficie.

- **MÉTODO INVERSO**

Determina el grupo sanguíneo a través de anticuerpos específicos(aglutininas) presentes en el suero. La muestra empleada debe ser suero o plasma, que serán enfrentados con eritrocitos del grupo A, del grupo B y del grupo O.

La presencia de aglutinación indicara que el suero o plasma problema poseen determinado anticuerpo, y que han reaccionado con los eritrocitos enfrentados.

2.2.7.3 DETERMINACIÓN ABO EN PLACA

MATERIALES

- Sueros comerciales: Anti-A, Anti-B, Anti- AB
- Porta objetos
- Palillos
- Lámpara

MUESTRA REQUERIDA

- Sangre total

PROCEDIMIENTO

1. Rotular el porta objetos con la letra A y la letra B en cada extremo y otro con la letra AB.

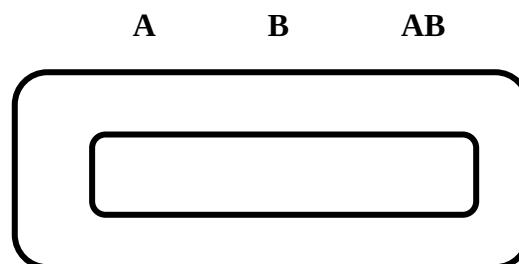


Fig. 30. Determinación ABO en placa

Elaborado Por: Silvana Ortega y Carina Palacios

2. Colocar una gota de suero Anti-A, Anti-B y Anti-AB en cada sección identificada del portaobjetos.

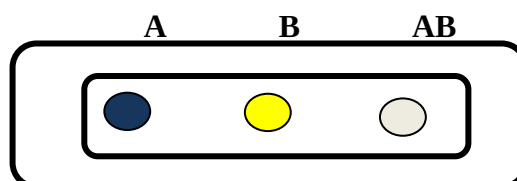


Fig. 31. Determinación ABO en placa

Elaborado Por: Silvana Ortega y Carina Palacios

3. Situar junto a cada gota de antisuero una gota de hematíes.

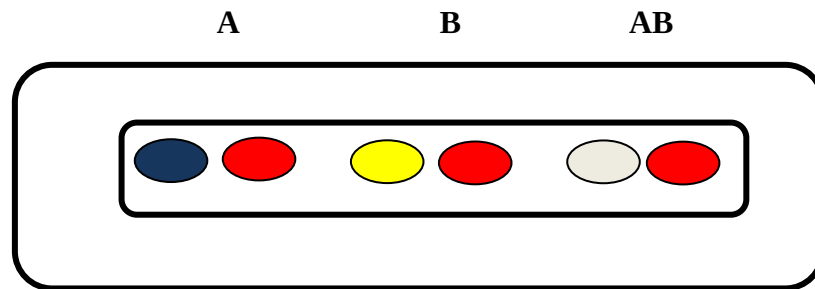


Fig. 32. Determinación ABO en placa

Elaborado Por: Silvana Ortega y Carina Palacios

4. Mezclar los hematíes y el antisuero de cada sección utilizando un palillo diferente en cada uno de ellas formando un círculo de 2 a 2,5 cm de diámetro.

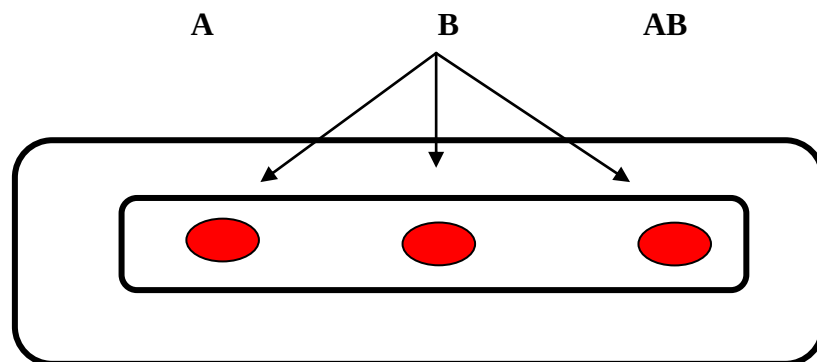


Fig. 33. Determinación ABO en placa

Elaborado Por: Silvana Ortega y Carina Palacios

Hacer oscilar el portaobjetos hacia adelante y hacia atrás.

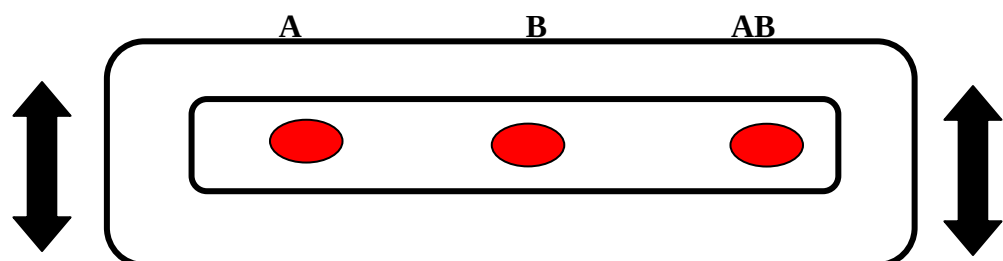


Fig. 34. Determinación ABO en placa

Elaborado Por: Silvana Ortega y Carina Palacios

5. Observar la presencia o la ausencia de aglutinación.

A Rh POSITIVO

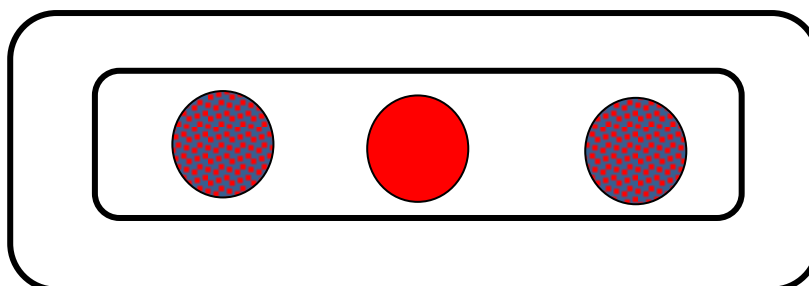


Fig. 35. Determinación ABO en placa

Elaborado Por: Silvana Ortega y Carina Palacios

B Rh POSITIVO

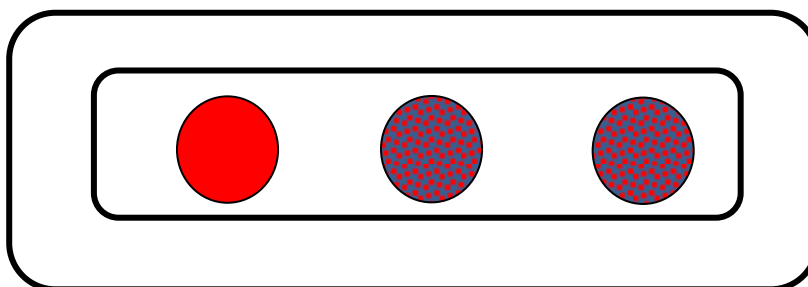


Fig. 36. Determinación ABO en placa

Elaborado Por: Silvana Ortega y Carina Palacios

AB Rh POSITIVO

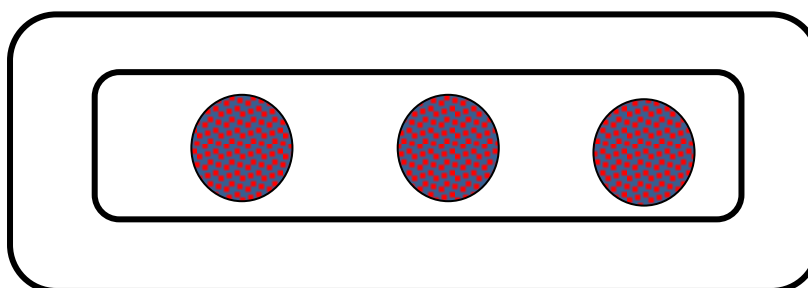


Fig. 37. Determinación ABO en placa

Elaborado Por: Silvana Ortega y Carina Palacios

O Rh POSITIVO

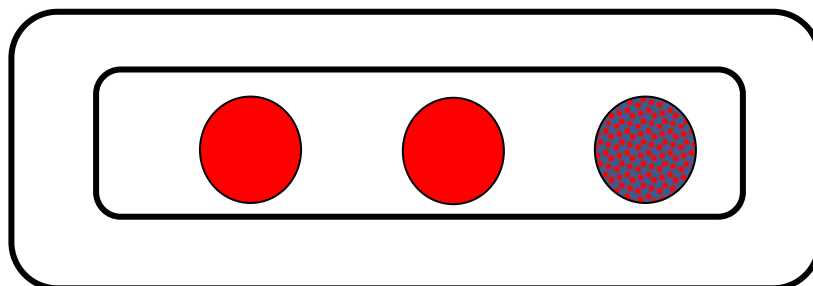


Fig. 38. Determinación ABO en placa

Elaborado Por: Silvana Ortega y Carina Palacios

A Rh NEGATIVO

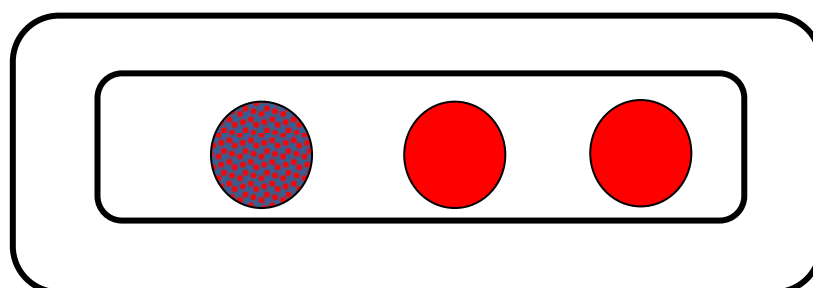


Fig. 39. Determinación ABO en placa

Elaborado Por: Silvana Ortega y Carina Palacios

B Rh NEGATIVO

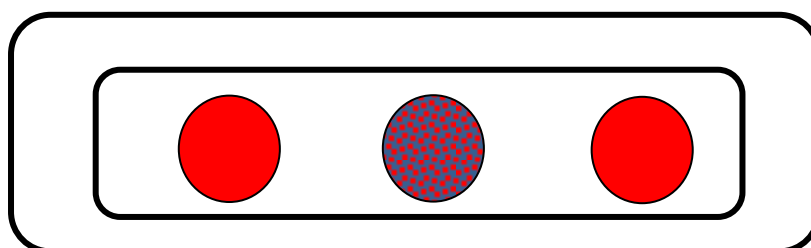


Fig. 40. Determinación ABO en placa

Elaborado Por: Silvana Ortega y Carina Palacios

AB Rh NEGATIVO

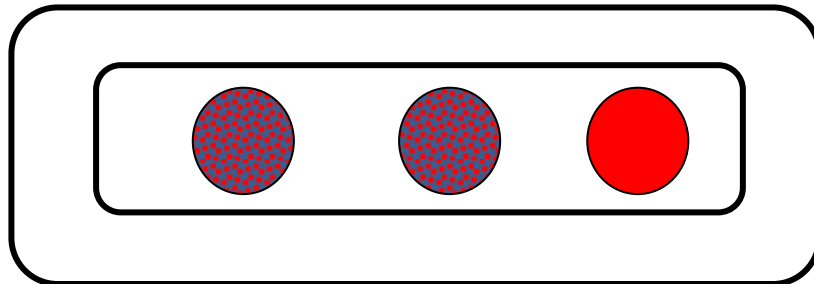


Fig. 41. Determinación ABO en placa

Elaborado Por: Silvana Ortega y Carina Palacios

O Rh NEGATIVO

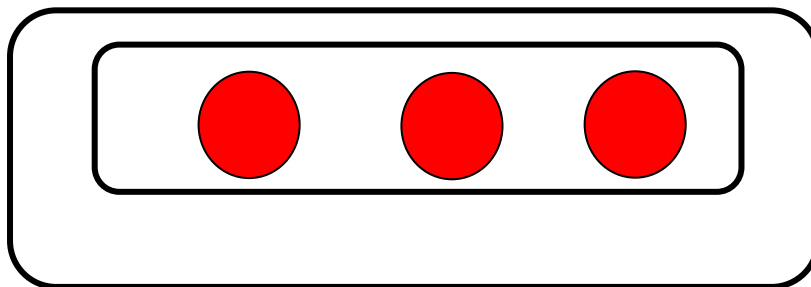


Fig. 42. Determinación ABO en placa

Elaborado Por: Silvana Ortega y Carina Palacios

6. La presencia o ausencia de aglutinación puede confirmarse con la observación al microscopio de la mezcla.

2.2.7.4 DETERMINACIÓN ABO EN TUBO

MATERIALES

- ❖ Sueros comerciales: Anti-A, Anti- B, Anti- AB
- ❖ Glóbulos rojos al 5%
- ❖ Tubos de ensayo
- ❖ Pipetas Pasteur
- ❖ Lámpara

❖ Centrifuga

MUESTRA REQUERIDA

❖ Sangre total

INTENSIDAD DE LA REACCIÓN (TUBO)

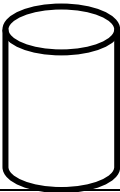
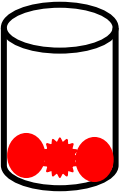
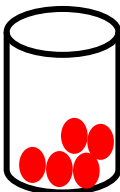
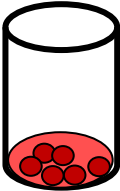
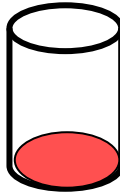
INTENSIDAD	CARACTERÍSTICAS	IMAGEN
4 +	Eritrocitos incluidos en un botón sólido, contorno definido y fondo transparente.	
3 +	Botón irregular con desprendimientos grandes y fondo transparente.	
2 +	Aglutinados medianos y fondo transparente.	
1 +	Aglutinados pequeños y fondo turbio.	
Negativo	Ausencia de aglutinación y fondo turbio.	

Fig. 43. Intensidad de Reacción

Elaborado Por: Silvana Ortega y Carina Palacios

PROCEDIMIENTO

1.- Rotular tubos con la letra A, B, AB, C

A B AB C

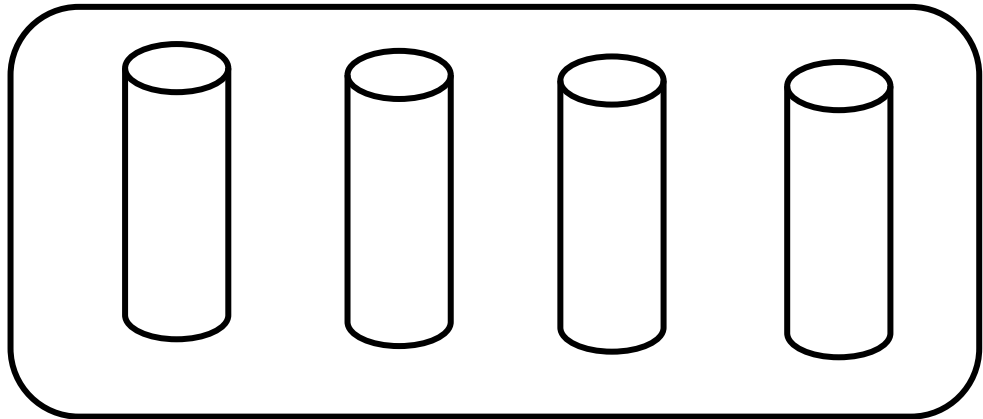


Fig. 44. Determinación ABO en tubo

Elaborado Por: Silvana Ortega y Carina Palacios

2.- Colocar una gota de Anti-A, B, AB en cada tubo

A B AB

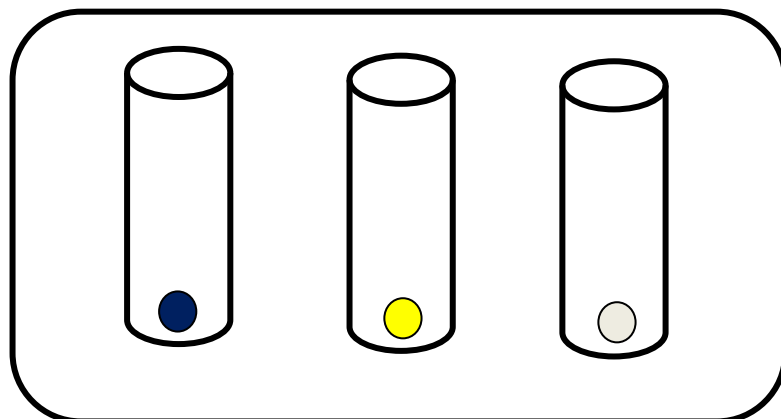


Fig. 45. Determinación ABO en tubo

Elaborado Por: Silvana Ortega y Carina Palacios

3.- Colocar una gota de SSF en el tubo control

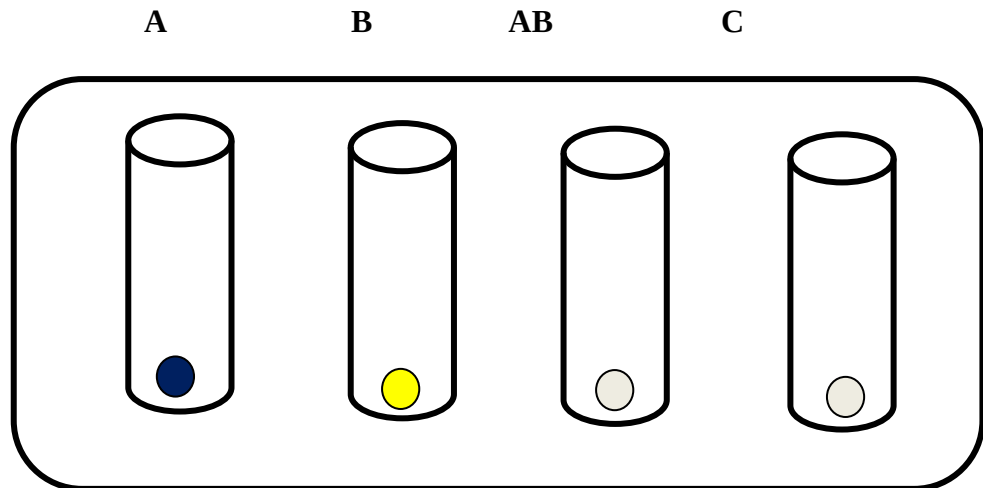


Fig. 46. Determinación ABO en tubo

Elaborado Por: Silvana Ortega y Carina Palacios

4.- Añadir a cada tubo una gota de glóbulos rojos al 5%.

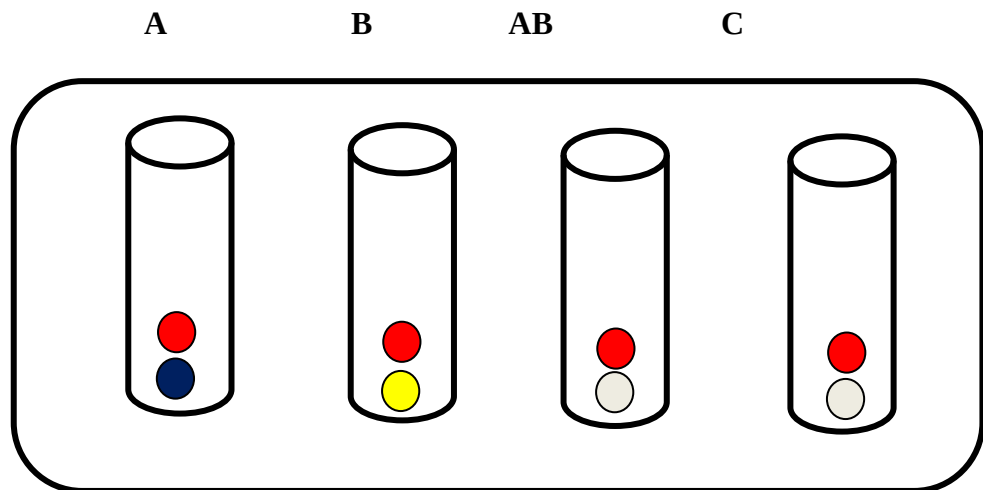


Fig. 47. Determinación ABO en tubo

Elaborado Por: Silvana Ortega y Carina Palacios

5.- Mezcla suavemente el contenido de los tubos y centrifugarlos durante 15-30 minutos a 3.000 rpm.

6.- Resuspender suavemente los sedimentos de los hematíes y examinar la aglutinación con la ayuda de la lámpara.

7.- Anotar los resultados de la prueba.

REPORTE DE LOS RESULTADOS

La aglutinación de hematíes con antisueros específicos es interpretado como positivo e indica la presencia del antígeno correspondiente.

Si no hay aglutinación produce un resultado negativo (0) indicando que el antígeno correspondiente no se encuentra.

SE DEBE CONSIDERAR

- ✓ No confiar en el color de los antisueros para identificar el antisuero.
- ✓ Todos los tubos deben estar debidamente rotulados.
- ✓ No realizar pruebas a temperaturas muy altas.
- ✓ Realizar la observación de aglutinación con un fondo bien iluminado, no sobre una caja visora de temperatura alta.
- ✓ Anotar los resultados inmediatamente observados.
- ✓ Las discrepancias de grupo globular puede deberse a antígenos debilitados, expresión antigénica alterada debido a enfermedad, quimerismo o exceso de sustancia de grupo sanguíneo.
- ✓ Se puede encontrar falso-negativo en tubo si la suspensión de hematíes es muy concentrada.

2.2.7.5 CAUSAS DE ERRORES DE LA TÉCNICA

CAUSAS DE FALSO POSITIVO

- 1.- Adición de antisuero equivocado al tubo de la prueba.
- 2.- Exceso de centrifugación de la mezcla suero/ células.
- 3.- Material de vidrio sucio (detergente, etc.)
- 4.- Técnica de lectura inadecuada, agitación muy débil.

CAUSAS DE FALSO NEGATIVO

- 1.- Omisión de las células del paciente.
- 2.- Omisión de antisuero al tubo de la prueba.
- 3.- Baja centrifugación de la mezcla suero/ células.
- 4.- Agitación vigorosa al momento de hacer la lectura.
- 5.- Deficiencia de lavado de las células.

PRUEBA INVERSA

PRINCIPIO.-

El grupo inverso esta basada en la presencia o ausencia de anticuerpos anti-a y anti-b. si hay anticuerpos en el suero estos se pueden evidenciar enfrentando células que expresen los antígenos A o B.

Debido a la carencia de síntesis de inmunoglobulinas en recién nacidos estas pruebas no se realizan en muestras de estos pacientes.

REACTIVOS, SUMINISTROS Y EQUIPOS

- Hematíes A1, A2, B y O preparados al 3-5%
- Tubos
- Pipetas Pasteur
- Lámpara con luz intensa
- Centrifuga

PROCEDIMIENTO

- 1.- Colocar una gota de hematíes reactivos del grupo A1, B y O en tubos limpios y rotulados correctamente.

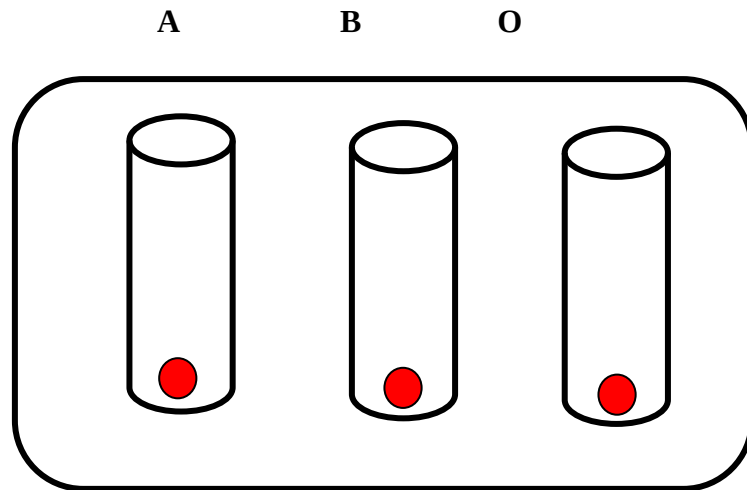


Fig. 48. Prueba Inversa

Elaborado Por: Silvana Ortega y Carina Palacios

2.- Añadir a cada tubo dos gotas de suero problema.

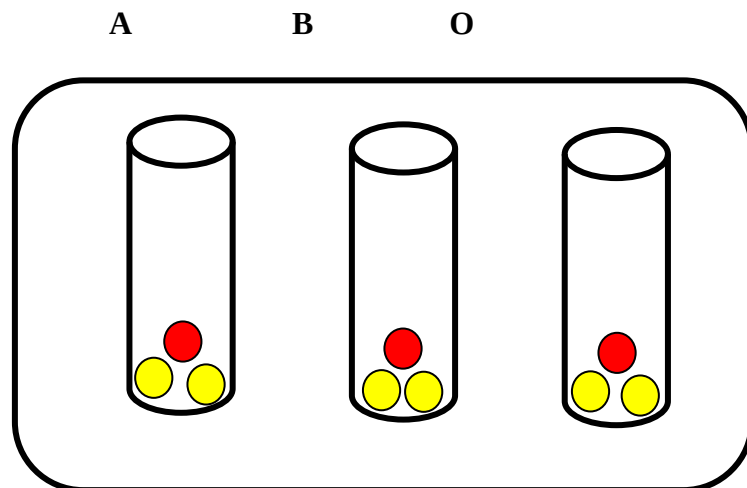


Fig. 49. Prueba Inversa

Elaborado Por: Silvana Ortega y Carina Palacios

3.- Mezclar suavemente el contenido de los tubos y centrifugar por 15 segundos a 3.500 rpm.

4.- Examinar los tubos en busca de hemolisis.

5.- Resuspender suavemente el botón celular y observar si hay aglutinación.

6.- Anotar los resultados de la prueba. (6.- **Guía para la realización de pruebas inmunohematológicas. Autor Lic. Fernando Jaramillo).**

2.2.7.6 SISTEMA Rh

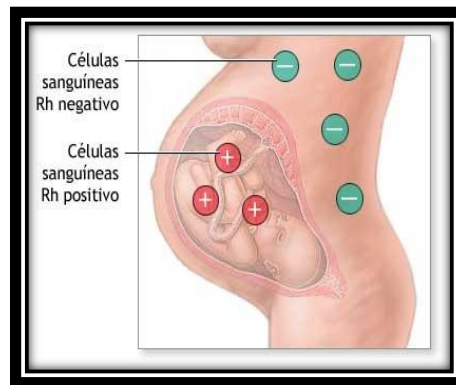


Fig. 50. Sistema Rh

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

Es un sistema muy complejo. Para simplificar, es conveniente clasificar a los individuos como Rh positivos (85% de la población en el Reino Unido) o Rh negativo (15%), dependiendo de la presencia del antígeno D.

En gran parte, esto es una medida preventiva para evitar transfundir a un receptor Rh negativo con el antígeno D, que es el antígeno eritrocitario más inmunogénico después del A y el B.

El sistema Rh está codificado por 6 genes D, d, C, c, E, e: y 5 antígenos que son D, C, c, E, e.

Estos antígenos están definidos por los antisueros correspondientes, a excepción del 'anti-d' que no existe porque d es silente, y los anticuerpos Rh se deben a aloinmunización por transfusión previa o embarazo. Son habitualmente IgG (a veces con un componente IgM), reaccionan sobre todo a 37°C y no fijan el

complemento. Así, la hemólisis, cuando se produce, es extravascular y tiene lugar principalmente en el bazo.

El anti-D es clínicamente el más importante; ha ocasionado reacciones transfusionales hemolíticas mortales y, el anti-D, era la causa más común de muerte fetal debida a enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN).

El resto de los anticuerpos Rh, aunque menos comunes, pueden, sin embargo, causar reacciones transfusionales hemolíticas y EHRN. (BROSTOFF, Jonathan y otros. 1994. “Inmunología Clínica”).

2.2.7.7 DETERMINACIÓN EN PLACA

MATERIALES

- 🚪 **Sueros comerciales: Anti-D, Anti-C, Anti-E, Anti-c y Anti-e**
- 🚪 **Porta objetos**
- 🚪 **Palillos**
- 🚪 **Lámpara**

MUESTRA REQUERIDA

- ❖ **Sangre total**

PROCEDIMIENTO

- 1.- Rotular el porta objetos con letras D, C, E, c, e en cada extremo.**

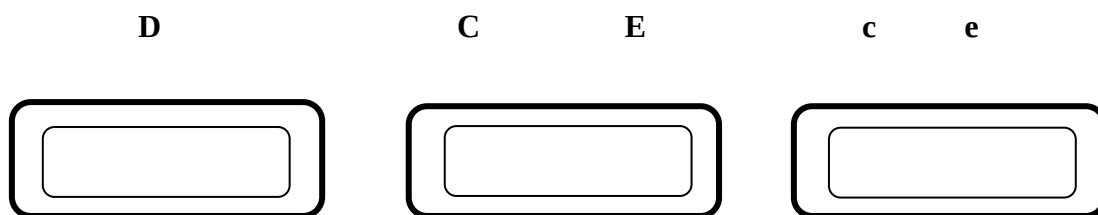


Fig. 51. Determinación en placa del Grupo Rh

Elaborado por: Silvana Ortega y Carina Palacios

2.- Colocar una gota de suero Anti-D, C, E, c, e en cada placa y una gota de hematíes en estudio.

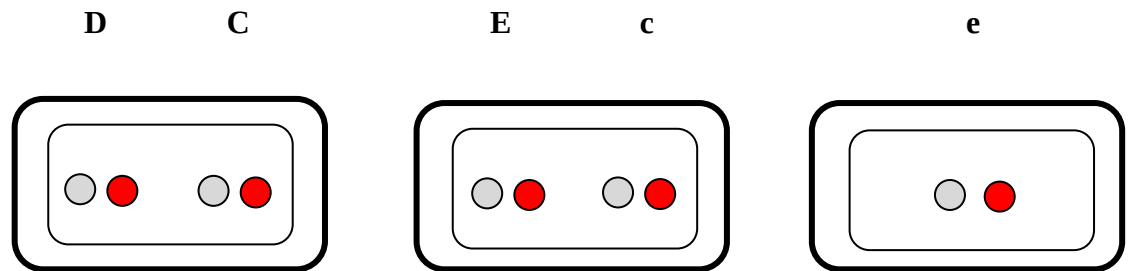


Fig. 52. Determinación en placa del Grupo Rh

Elaborado por: Silvana Ortega y Carina Palacios

3.- Mezclar los hematíes y el antisuero de cada sección utilizando un palillo diferente en cada uno de ellos formando un círculo de 2 a 2,5 cm de diámetro aproximadamente.

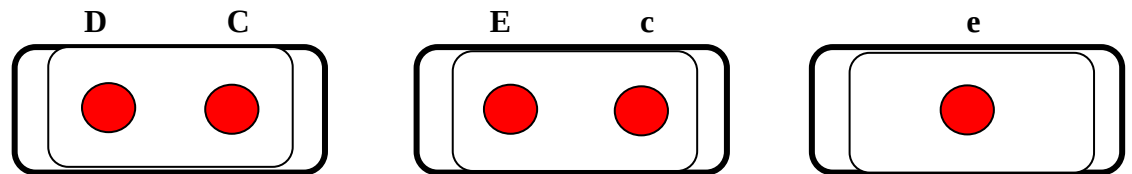


Fig. 53. Determinación en placa del Grupo Rh

Elaborado por: Silvana Ortega y Carina Palacios

4.- Hacer oscilar el porta objetos hacia adelante y hacia atrás.

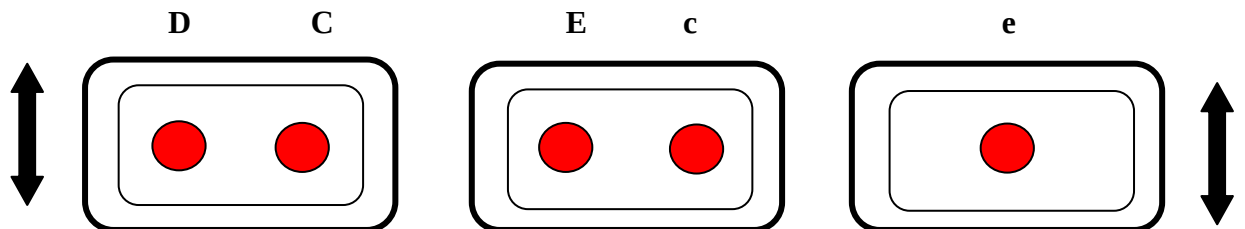


Fig. 54. Determinación en placa del Grupo Rh

Elaborado por: Silvana Ortega y Carina Palacios

5.- Observar la presencia o ausencia de aglutinación.

La presencia o ausencia de aglutinación puede ser confirmada con la observación de la mezcla al microscopio.

2.2.7.8 DETERMINACIÓN Rh EN TUBO

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

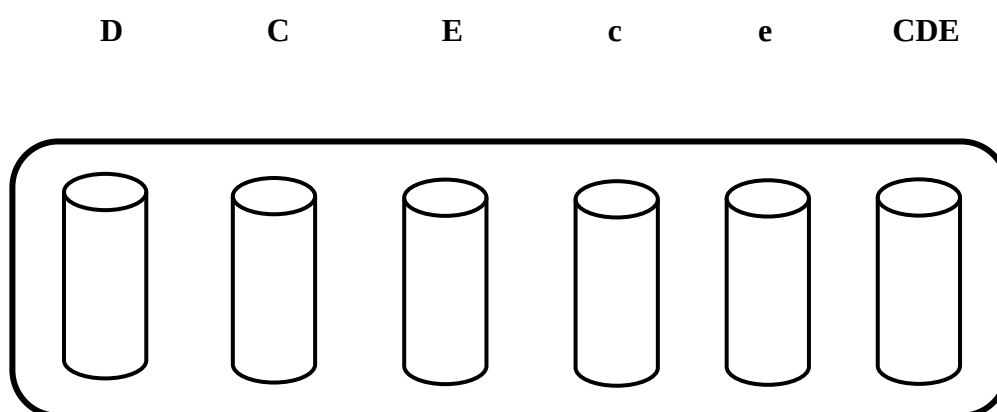


Fig. 55. Determinación en tubo del Grupo Rh

Elaborado por: Silvana Ortega y Carina Palacios

2.- Colocar una gota de antisueros –anti-D, C, E, c, e y CDE y una gota de muestra en estudio en cada tubo limpio.

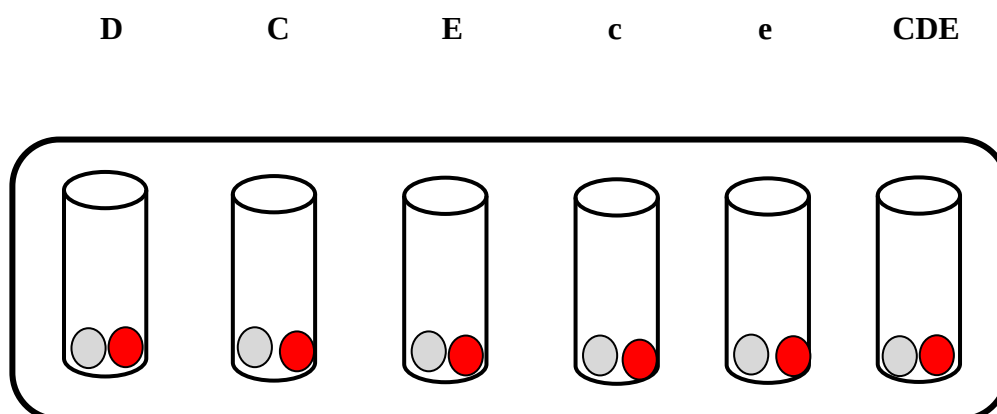


Fig. 56. Determinación en tubo del Grupo Rh

Elaborado por: Silvana Ortega y Carina Palacios

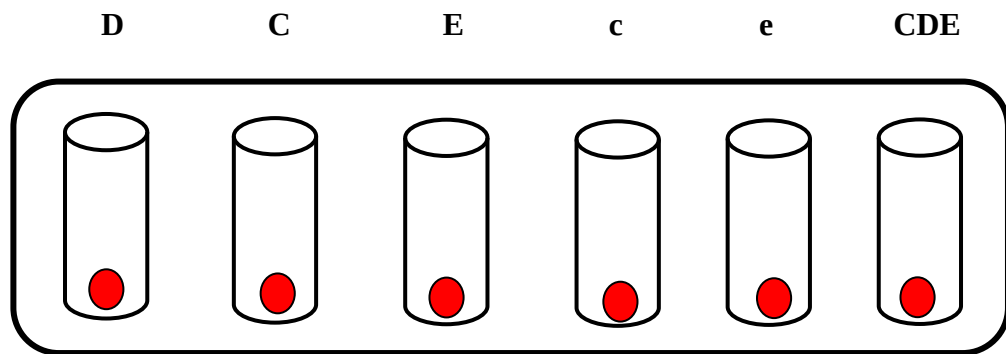


Fig. 57. Determinación en tubo del Grupo Rh

Elaborado por: Silvana Ortega y Carina Palacios

- 4.- Observar los tubos si existe o no hemolisis.
- 5.- Resuspender suavemente el botón celular.
- 6.-. Observar si existe o no aglutinación.

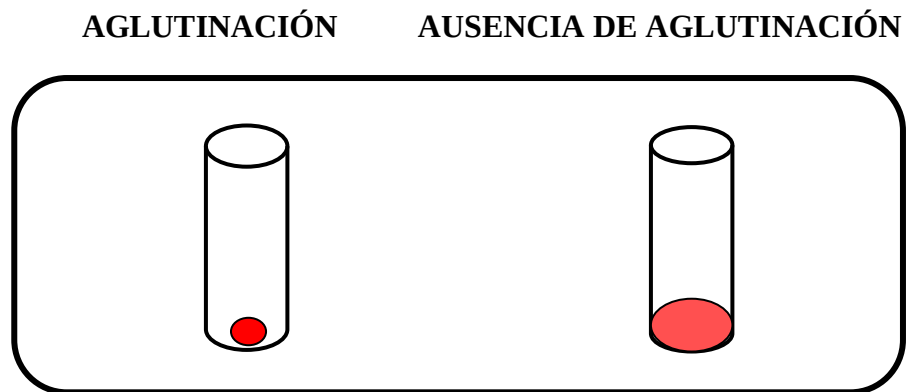


Fig. 58. Reacción de Aglutinación

Elaborado por: Silvana Ortega y Carina Palacios

- 7.- Anotar los resultados de la prueba.

2.2.7.9 CAUSAS DE ERROR DE LA TÉCNICA

- ESTANDARIZACIÓN O CONSERVACIÓN INCORRECTA DE LOS ANTISUEROS

Es muy importante evaluar todos los lotes de antisueros antes de utilizarlos. Para evitar los resultados falsos negativos, siempre deben conservarse a la temperatura indicada por el proveedor. Los antisueros infectados pueden inducir resultados falsos positivos.

- **FORMACIÓN DE "PILAS DE MONEDAS"**



Fig. 59. Formación de Pilas de Monedas

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

La formación de pilas de monedas a menudo se denomina seudoaglutinación pilas de monedas. Este fenómeno suele observarse en el suero de pacientes con proporción albúmina/globulinas anormal. Ante la duda, es esencial consultar a un profesional experimentado. Si se agrega 1 gota de solución salina hipertónica (1,5%), las pilas de monedas desaparecen pero la aglutinación verdadera no.



Fig. 60. Aglutinación verdadera (vista microscópica)

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

- **MUESTRAS DE SANGRE CONTAMINADAS**

Las muestras de sangre contaminadas pueden afectar los resultados. En general (pero no siempre) se reconocen por el olor desagradable. Además, cuando se preparan las células para determinar el grupo, se advierte hemólisis. En estas circunstancias es preferible solicitar una nueva muestra.

- **GELATINA DE WARTON**

La gelatina de Wharton es la sustancia que recubre el cuerpo y cordón umbilical del recién nacido y a menudo se identifica en las muestras de sangre del cordón umbilical obtenidas en forma directa y no a través de una jeringa. Este material mucoso contamina las muestras y puede provocar formación de pilas de monedas. Para eliminarlo, se lavan las células en solución salina calentada a 37° C

- **CAUSAS DE FALSOS POSITIVOS**

- ✓ Adición del antisuero equivocado al tubo de la prueba.
- ✓ Exceso de centrifugación de la mezcla suero/ células.
- ✓ Material de vidrio sucio.
- ✓ Técnica de lectura inadecuada
- ✓ Agitación débil.

- **CAUSAS DE FALSOS NEGATIVOS**

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

2.2.8 GENÉTICA BÁSICA DEL SISTEMA Rh

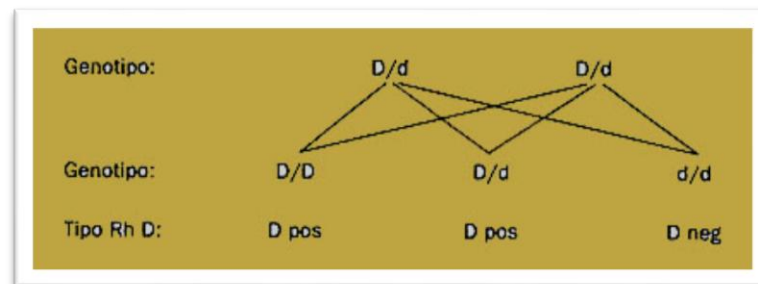


Fig. 61. Árbol familiar que muestra que dos progenitores D positivos pueden tener un hijo D negativo

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

El árbol familiar demuestra que dos progenitores D positivos pueden tener un hijo D negativo. El niño que hereda un gen d de cada uno, es D negativo (d/d). De las otras dos combinaciones posibles resultan hijos D positivos.

El sistema ABO posee dos antígenos, A y B, pero el Rh es mucho más complejo porque está codificado por los genes Cc , Dd y Ee , responsables de los antígenos Cc , D y Ee .

Cuando una persona hereda el gen D , sus glóbulos rojos reaccionan con los anti- D y por lo tanto, se dice que es Rh D positiva.

Si no hereda el gen D , sus glóbulos rojos no reaccionan con los anti- D y por lo tanto, se dice que es Rh D negativa.

2.2.8.1 IMPORTANCIA DE LA COMPATIBILIDAD RhD

En hemoterapia es preciso garantizar que los pacientes Rh D negativos reciban sangre Rh D negativa. Este hecho adquiere mayor relevancia en las mujeres (con la posible excepción de aquellas que superaron la edad de concebir) , porque la transfusión inadvertida de sangre Rh D positiva a una niña o joven Rh D negativa podría sensibilizarla e inducir la producción de anti- D . Como los anticuerpos anti- D son IgG, pueden atravesar la placenta y durante una gestación Rh D positiva,

pueden destruir los glóbulos rojos fetales y causar enfermedad hemolítica del recién nacido. En consecuencia, para determinar el grupo Rh D es esencial emplear técnicas apropiadas y confiables.

2.2.8.2. ANTÍGENO *Rh D^u*

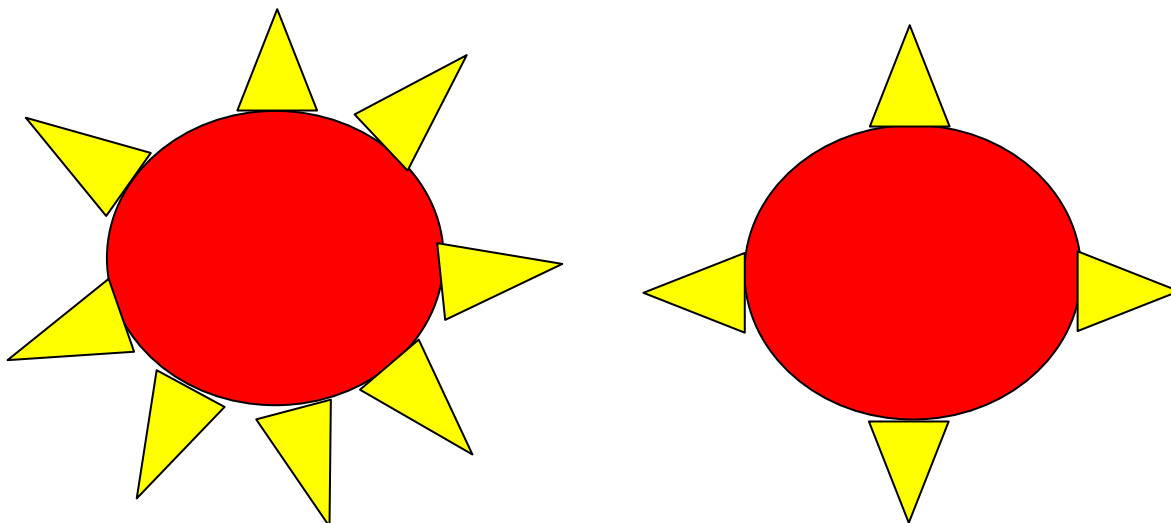


Fig. 62. Antígeno Rh Du

Elaborado por: Silvana Ortega

El término Du se refiere a la expresión débil del antígeno D normal, es decir, la menor concentración de antígenos D por glóbulos rojos. Esta es una característica heredada. Como entre los anti-D existen ligeras diferencias, la potencia de la reacción de los eritrocitos Du varía con el suero utilizado.

2.2.8.3 OTROS SISTEMAS DE GRUPOS SANGUÍNEOS

Existen otros antígenos eritrocitarios, capaces de producir anticuerpos específicos y que tienen cierta importancia en las reacciones transfusionales.

A continuación trataremos los más conocidos.

SISTEMA KELL

Este sistema es el más importante después del Rh desde el punto de vista inmunogénico.

En este sistema el antígeno K tiene que ver con las transfusiones feto maternas, es el más importante clínicamente e inmunológicamente.

Los antígenos K, Kpb y Js b son considerados antígenos públicos, los anticuerpos anti Kell perteneciente al antígeno K fijan el complemento y generan hemolisis intravascular severa.

SISTEMA DUFFY

Se comporta como un marcador racial sus antígenos mas importantes se encuentran ausentes en la raza negra, son mas frecuentes en la raza blanca. Ejemplo: Fya, Fyb, Fy3, Fy4, Fy5.

La disposición de estos antígenos sirve como un mecanismo de protección contra la malaria, especialmente del plasmodium vivax.

Los anticuerpos de este sistema son de tipo Ig G activan el complemento produciendo hemolisis intravascular.

SISTEMA KIDD

Se compone de dos antígenos: Kidd^a(JK^a) y Kidd^b(Jk^b). su frecuencia es alta, y por tanto es difícil encontrar anticuerpos anti-Kidd.

SISTEMA MNS

Se encuentra formado por 4 antígenos M, N, S, s.

Estos antígenos no tienen interés transfusional. Los anticuerpos formados contra los antígenos de este sistema pueden ser naturales o inmunes. Los más interesantes son del tipo Ig M y a 37°C pueden activarse dando lugar a reacciones transfusionales. Son muy poco frecuentes en la población.

2.2.8.3 CONSERVACIÓN DE LOS ANTISUEROS Y GLÓBULOS ROJOS



Fig. 63. Conservación de Antisueros

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

En general los antisueros se conservan a 4oC, pero es preciso leer y seguir las instrucciones del proveedor. Los sueros no deben descongelarse y congelarse en forma reiterada porque se alteran. En condiciones ideales, se descongelan una sola vez y se mezclan bien, porque las proteínas tienden a separarse del agua.

En lo posible, los glóbulos rojos que se utilizan en la determinación inversa del grupo sanguíneo deben prepararse a diario. Si se conservan a 4oC, pueden emplearse durante dos días. Si exhiben hemólisis o decoloración, deben descartarse.

Si el banco de sangre recibe reactivos (antisueros o glóbulos rojos) de otra institución, es menester consignar la siguiente información:

- fecha de recepción
- origen
- condiciones de conservación
- fecha en que comenzaron a usarse
- número de lote
- fecha de vencimiento
- comentarios o problemas derivados de los reactivos.

2.2.9. TITULACIÓN DEL SUERO ANTI- CDE

Cuando un sujeto entra en contacto con hematíes que poseen Ag del sistema Rh que no están presentes en sus propios eritrocitos, responde produciendo aloanticuerpos dirigidos contra esos Ag. Estos **aloanticuerpos anti-Rh** tienen las siguientes características:

- No surgen de una forma *natural*, sino que aparecen como respuesta a contacto previo con sangre no compatible que, generalmente, está ocasionado por una transfusión inadecuada o un embarazo.
- Normalmente son de tipo IgG.
- Reaccionan mal en medio salino.
- No activan el complemento.
- No hemolizan los hematíes es las pruebas *in vitro*.
- Reaccionan mejor a 37° C.

El suministro intravenoso de eritrocitos no compatibles a un individuo, da lugar a una **reacción transfusional**.

Las reacciones transfusionales pueden ser inmediatas o retardadas. **Las reacciones transfusionales inmediatas o agudas** tienen lugar poco después de la administración de sangre incompatible y, en ellas, el paciente puede presentar: sensación de opresión torácica, dolor en la región lumbar, fiebre, hipotensión, hemorragias, hemoglobinuria e insuficiencia renal.

Las reacciones transfusionales retardadas suelen aparecer a las 2 ó 3 semanas de la transfusión y no originan síntomas, por lo que sólo son detectables al observar un descenso de la concentración de hemoglobina en la sangre. **La enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN)**



Fig. 64. Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagenesn>

Se produce como reacción de una embarazada Rh- frente a los hematíes Rh+ de su feto.

En los casos más graves, la EHRN da lugar a una severa anemia fetal que origina una insuficiencia cardíaca que conduce a un edema generalizado (**hidrops fetalis**).

En casos más leves, la EHRN se caracteriza por un aumento de la concentración plasmática de bilirrubina en el recién nacido (hiperbilirrubinemia neonatal).

1. Esta bilirrubina producida a consecuencia de la destrucción de los eritrocitos Rh+, puede depositarse en los núcleos grises del Sistema Nervioso central, causando una ictericia nuclear o **Kernicterus**, que suele cursar con: vomito, rechazo de alimentos. (7.- **MASSON. Diagnóstico y tratamientos clínicos por el laboratorio. 9na edición. Editorial Ediciones Salvat. México.**)

FUNDAMENTO

Los Ac anti-CDE contenidos en el antisuero comercial se enfrentan con hematíes tipados Rh+, produciéndose una aglutinación. Cuanto mayor es la concentración de los Ac anti-CDE en el antisuero comercial, a mayor dilución puede éste aglutinar a los hematíes tipados Rh+

MATERIAL NECESARIO

- Rotulador de vidrio
- Gradillas.
- Tubos de ensayo
- Pipetas graduadas de 2 y 5 cc.
- Pipeta automática (100 ul).
- Pipetas Pasteur desechables.
- Un baño de agua.
- Una centrífuga.
- Un reloj

REACTIVOS

- **Suero fisiológico** (solución salina al 0,9% aproximadamente).



Fig. 65. Suero Fisiológico

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagenes>

- **Albúmina bovina** al 20%,



Fig. 66. Albumina Bovina

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagenes>

- Preparada de la siguiente forma:
Tomar 4 ml de una albúmina bovina al 30%, de origen comercial.
- Diluirl 2 ml de suero fisiológico.
- **Suspensión de hematíes tipados**



Fig. 67. Hematíes Tipados

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

- ✓ A una concentración del 2%, preparada de la manera que se expone a continuación:
Coger 0,1 ml de hematíes 0+.
- ✓ Añadirles 4,9 ml de albúmina bovina al 20%.

MUESTRA

- Suero anti-CDE de procedencia comercial.



Fig. 68. Antisuero CDE

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

Técnica

1°. Preparar una batería de diluciones del suero anti-CDE, indica en el cuadro siguiente:

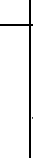
Numero de los tubos	1	2	3	4	5	6	7	8
Albumina al 20% en (ul)	----- -	100	100	100	100	100	100	100
Suero anti-CDE en (ul)	100	100	----- --	----- -	----- -	----- -	----- -	----- --
Mezcla transferida en (ul)	----- -	 100	 100	 100	 100	 100	 100	 100
Dilución obtenida	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128

Fig. 69. Diluciones del antisuero CDE

Elaborado por: Silvana Ortega y Carina palacios

2°. Rotular 8 tubos con las diluciones del suero anti-CDE obtenidas en el punto anterior y otro más con la letra C (de Control).

3°. Depositar 2 gotas de las diluciones del suero anti-CDE en sus tubos correspondientes y 2 gotas de albúmina bovina al 20% en el tubo C.

4°. Añadir 1 gota de la suspensión al 2% de hematíes 0+.

6°. Centrifugar los tubos a unas 3.500 r.p.m., durante 45 segundos aproximadamente.

DILUCIONES DEL SUERO ANTI-CDE

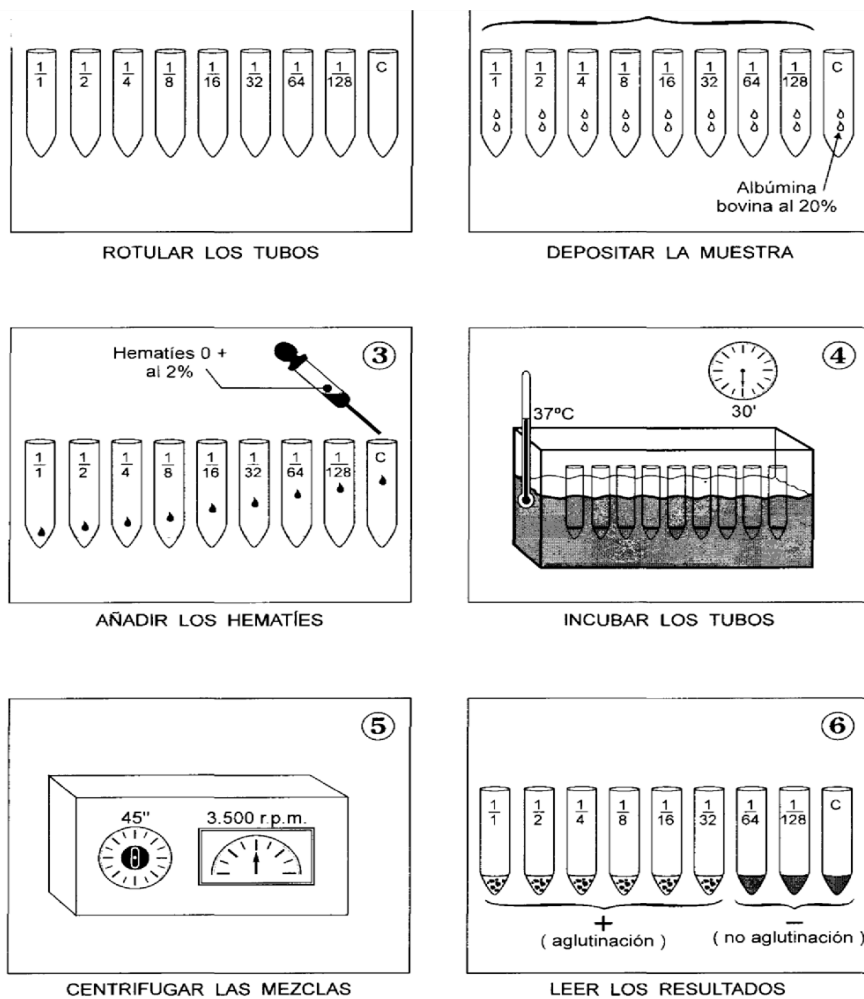


Fig. 70. Diluciones del antisuero CDE

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

LECTURA DE RESULTADOS

Desalojar el sedimento hemático del fondo de los tubos, golpeando el extremo inferior de los mismos, suave y sucesivamente, con el pulpejo de los dedos medio y anular.

Hay aglutinación cuando aparecen unos grumos rojos que flotan en un líquido claro. En el caso contrario, los hematíes se resuspenden homogéneamente, dando lugar a un líquido de color rojizo

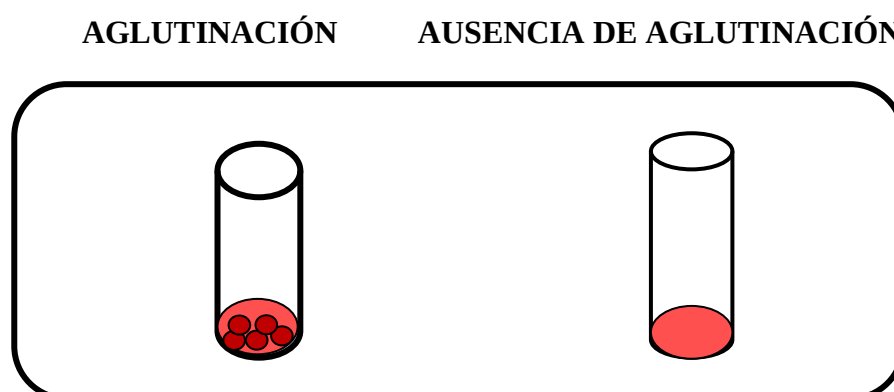


Fig. 71. Reacción de Aglutinación

Elaborado por: Silvana Ortega y Carina Palacios

INTERPRETACIÓN CLÍNICA DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS

El título del suero anti-CDE corresponde a la inversa de la máxima dilución con la que la prueba ha dado positiva (ha habido aglutinación).

El título del suero anti-CDE ha de ser, al menos, de 32, para que éste sea considerado como un reactivo de una calidad aceptable. En el tubo C, no debe observarse la presencia de aglutinación, es decir, en él la prueba ha de ser negativa para que el resultado obtenido sea valorable.

2.2.10 CONTROL DE CALIDAD

CALIDAD DE LOS REACTIVOS

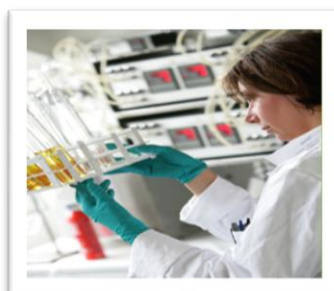


Fig. 72. Control de Calidad de los Reactivos

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagenes>

Todos los centros adquieren los reactivos que van a utilizar después de comprobar que cumplen sus expectativas técnicas.

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.

- **CALIDAD DE LAS TÉCNICAS**



Fig. 73. Calidad de Técnicas

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

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:

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

- **CONTROL DE LA CALIDAD DE LOS REACTIVOS. SOLUCIÓN DE BAJA FUERZA IÓNICA (LISS)**



Fig. 74. Solución de Baja Fuerza Iónica

Fuente :<http://imágenes.google.com.ec/imagesn>

Parámetros que se deben controlar

- Requisitos cualitativos.
- Frecuencia de los controles.
- Apariencia.
- pH.
- Conductividad.
- Ausencia de turbidez o partículas detectables por examen visual .(6.- **GARCIA, Benjamín E. y otros. Hematología II. Hemostasia, Banco de Sangre y Control de Calidad. Tomo II. 2001. Editorial Paraninfo).**

2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

- ❖ **AGLUTINACIÓN:** Agrupamiento de una suspensión de partículas al reaccionar el Ag presente con su Ac específico. *In vivo* estas partículas son hematíes. *In Vitro* pueden ser los propios hematíes o partículas inertes como el látex, bentonita, carbón vegetal, etc.
- ❖ **ALOINMUNIZACIÓN:** Respuesta inmune en la cual en presencia de antígenos extraños, el organismo produce anticuerpos.
- ❖ **ANTICUERPOS (Ac) IRREGULARES:** Son glucoproteínas o inmunoglobulinas que se producen frente a estímulos antigénicos; como inmunizaciones, por transfusiones o feto-materna.
- ❖ **ANTICUERPO NATURAL:** Anticuerpo que aparece en el torrente sanguíneo en ausencia de estimulación antigénica conocida.
- ❖ **ANTIGENO (Ag):** Se llama antígeno o inmunógeno a todas las moléculas capaces de inducir una respuesta inmune.
- ❖ **APOPTOSIS:** Muerte celular programada genéticamente.
- ❖ **BASÓFILO:** Tipo de glóbulo blanco que posee numerosos gránulos citoplasmáticos que contienen sustancias bioactivas.
- ❖ **CÉLULA LINFOIDE:** Célula del sistema linfático.
- ❖ **CÉLULA RECUBIERTA O SENSIBILIZADA:** Célula recubierta de anticuerpos, pero no aglutinada.
- ❖ **ENFERMEDAD HEMOLÍTICA DEL RECIÉN NACIDO (EHRN):** Alteración patológica que puede ocurrir en el curso de un embarazo, parto, o aborto, que se produce por una inmunización de la madre frente a los hematíes del feto.
- ❖ **ERITROCITOS o HEMATÍES:** Son un tipo de células sanguíneas que poseen aspectos de disco bicóncavos, tienen un diámetro de 7.2 micrones. Existen alrededor de 5 millones de eritrocitos por milímetro cúbico de sangre, tienen un tiempo de vida aproximado de 120 días.
- ❖ **ESTÍMULO ANTIGÉNICO:** Capacidad de producir cambios o modificaciones en el medio ambiente situado alrededor de un

organismo a causa de un antígeno.

- ❖ **FAGOCITOSIS:** Proceso por el cual las células ingieren elementos sólidos, en particular desechos celulares y patógenos.
- ❖ **FENOTIPO:** Efecto observable de los genes heredados; es decir, el grupo sanguíneo en sí.
- ❖ **FIBRINA:** Filamento proteicos delicados que se forman cuando la trombina actúa sobre el fibrinógeno soluble, durante la coagulación de la sangre.
- ❖ **FIBRINÓGENO:** Sustancia involucrada en la coagulación de la sangre.
- ❖ **GENOMA:** Estructura genética completa de un organismo.
- ❖ **GENOTIPO:** Genes heredados de cada uno de los progenitores y que se encuentran en los cromosomas.
- ❖ **GLOBULINA:** Proteína sérica de la que derivan los anticuerpos.
- ❖ **HEMATOPOYESIS:** Formación y desarrollo normal de las células sanguíneas en la médula ósea.
- ❖ **HEMOGLOBINA:** Líquido rojizo presente en los eritrocitos, constituido por hierro (hem) y cadenas polipeptídicas (globina).
- ❖ **HEMOGLOBINEMIA:** Presencia de hemoglobina en el plasma.
- ❖ **HEMOLISIS.-** Destrucción (lisis) de la membrana eritrocitaria que libera el contenido: hem y globina.

- ❖ **INCOMPATIBILIDAD:** Oposición entre dos o más sustancias, medicamentos, enfermedades, tipos de sangre etc., por la que no pueden juntarse o combinarse.
- ❖ **INMUNOHEMATOLOGÍA:** Parte de la hematología que se ocupa del estudio de las reacciones inmunológicas relacionadas con todos los componentes de la sangre.
- ❖ **REACCIÓN TRANSFUSIONAL:** efectos no deseados durante u después de una transfusión de sangre o derivados.

2.4. HIPÓTESIS Y VARIABLES

2.4.1 HIPÓTESIS

Es importante llevar un sistema de control de calidad en la utilización del antisuero CDE como control de calidad en la identificación de los fenotipos del sistema Rh en mujeres de edad fértil atendidas en el banco de sangre de Riobamba, durante el periodo de enero a junio del 2010 propende a mejorar un resultado eficiente en el momento de entrega de resultados.

2.4.2 VARIABLES

- ***VARIABLE INDEPENDIENTE***

Utilización del Antisuero CDE

- ***VARIABLE DEPENDIENTE***

Identificación de fenotipos del sistema Rh

2.5. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLES	CONCEPTO	CATEGORÍA	INDICADORES	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS
VARIABLE INDEPENDIENTE (causa) Utilización del antisuero CDE	Anticuerpos comerciales de estructura Ig G que valoran a los antígenos C,D y E del sistema Rh.	Efectividad de reactivos	Reacción de hemo-aglutinación	Guía de observación (HC)
VARIABLE DEPENDIENTE (efecto) Identificación de fenotipos del sistema Rh	Antígenos del sistema Rh que se ubican en la membrana eritrocitaria y son identificados cuando reaccionan con anticuerpos comerciales.	Intensidad de reacción	Reacción de hemo-aglutinación	Guía de observación (HC)

CAPITULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. MÉTODO

El método que se utilizara en esta presente investigación es inductivo- deductivo aquel que va de lo particular a lo general.

- **TIPO DE INVESTIGACIÓN**

Se realizara atreves de una investigación descriptiva- explicativa.

- **DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN**

DE CAMPO.- porque fenómeno a estudiarse o analizarse será estudiado en un lugar donde se está produciendo.

- **TIPO DE ESTUDIO**

Trasversal.- esta investigación se realizo en un periodo especifico ya determinado.

3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA

3.2.1 POBLACIÓN

La cantidad de reactivos que se han evaluado son 31,por ser una población relativamente pequeña no se ha procedido a extraer la muestra.

3.2.2. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS

Los datos se recolectaron a través de la observación para la cual se utilizara como instrumento una guía de observación.

3.3. TÉCNICAS PARA EL PROCEDIMIENTO DE LA INFORMACIÓN

Se utilizara la tabulación, cuadros, gráficos y correspondiente análisis.

**DATOS OBTENIDOS DE ANTISUEROS EVALUADOS ANTI-CDE PARA
SU CONTROL DE CALIDAD**

Nº	Mes	Reactivo Anti-CDE
1	Enero	5
2	Febrero	6
3	Marzo	4
4	Abril	6
5	Mayo	4
6	Junio	6

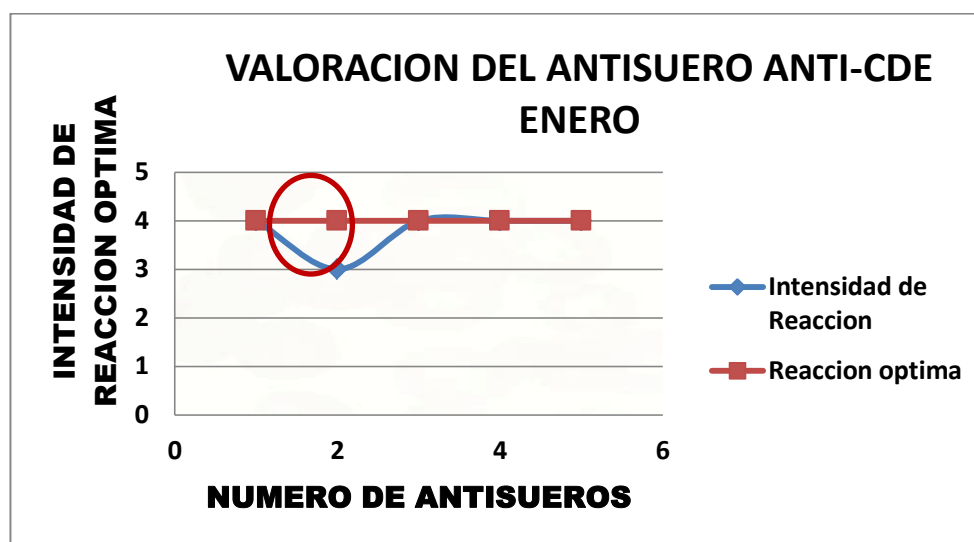
TABLA Nº 1 VALORACIÓN DEL ANTISUERO ANTI-CDE EN ENERO

Numero de antisueros	Intensidad de Reaccion	Reaccion optima
1	4	4
2	3	4
3	4	4
4	4	4
5	4	4

FUENTE: Banco de sangre de Riobamba

Elaborado por: Silvana Ortega y Carina Palacios

GRAFICA N° 1



FUENTE: Banco de sangre de Riobamba

Elaborado por: Silvana Ortega y Carina Palacios

INTERPRETACIÓN TABLA 1 Se califica al reactivo cuando expresa una intensidad de reactividad 4, el antisuero numero 2 baja su reactividad, debido a una mala conservación durante su transporte, tomando en cuenta que la temperatura de conservación debe ser de 2 a 8° C.

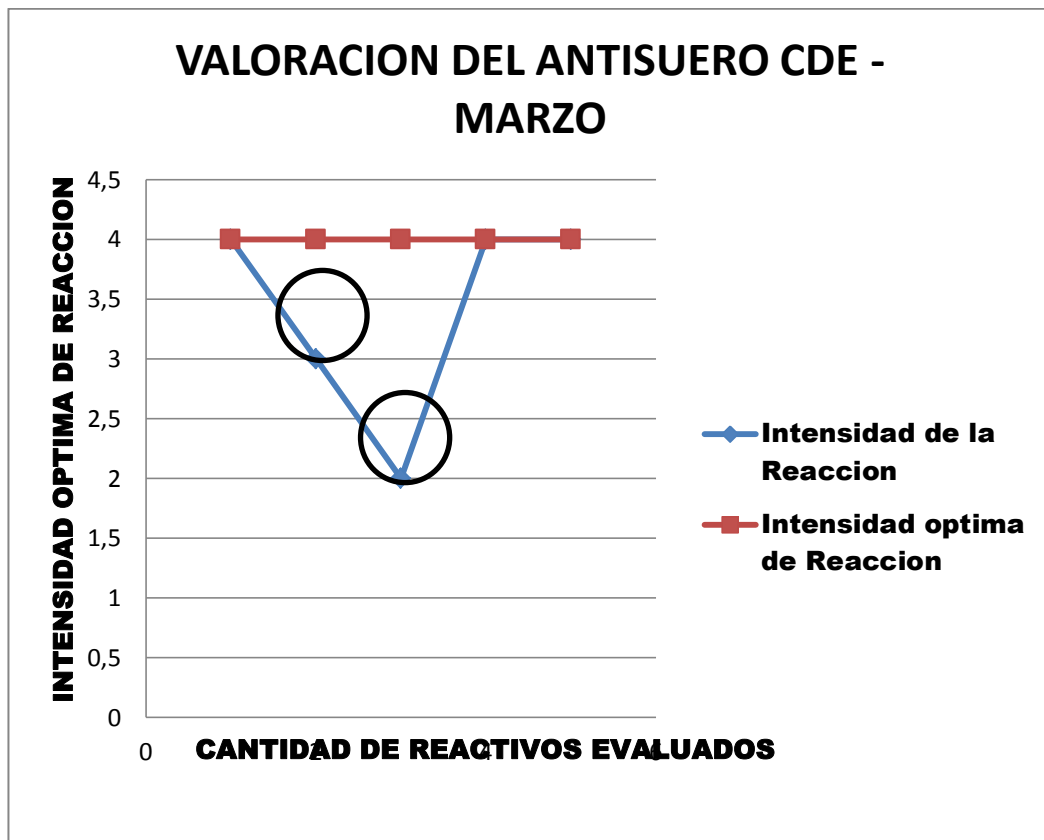
TABLA N°2 VALORACIÓN DEL ANTISUERO CDE MES DE MARZO

Antisueros Anti-CDE	Intensidad de la Reacción	Intensidad optima de Reacción
1	4	4
2	3	4
3	2	4
4	4	4
5	4	4

FUENTE: Banco de sangre de Riobamba

Elaborado por: Silvana Ortega y Carina Palacio

GRAFICA N°2



FUENTE: Banco de sangre de Riobamba

Elaborado por: Silvana Ortega y Carina Palacios

INTERPRETACIÓN TABLA 2: los antisueros CDE 2 y 3 presentan intensidad de reacción de 2 y 3 cruces, esto se debe a que se implemento antisueros CDE de otra casa comercial lo que significa que para el servicio de pruebas inmunohematologicas no cumple con sus exigencias desde su preparación.

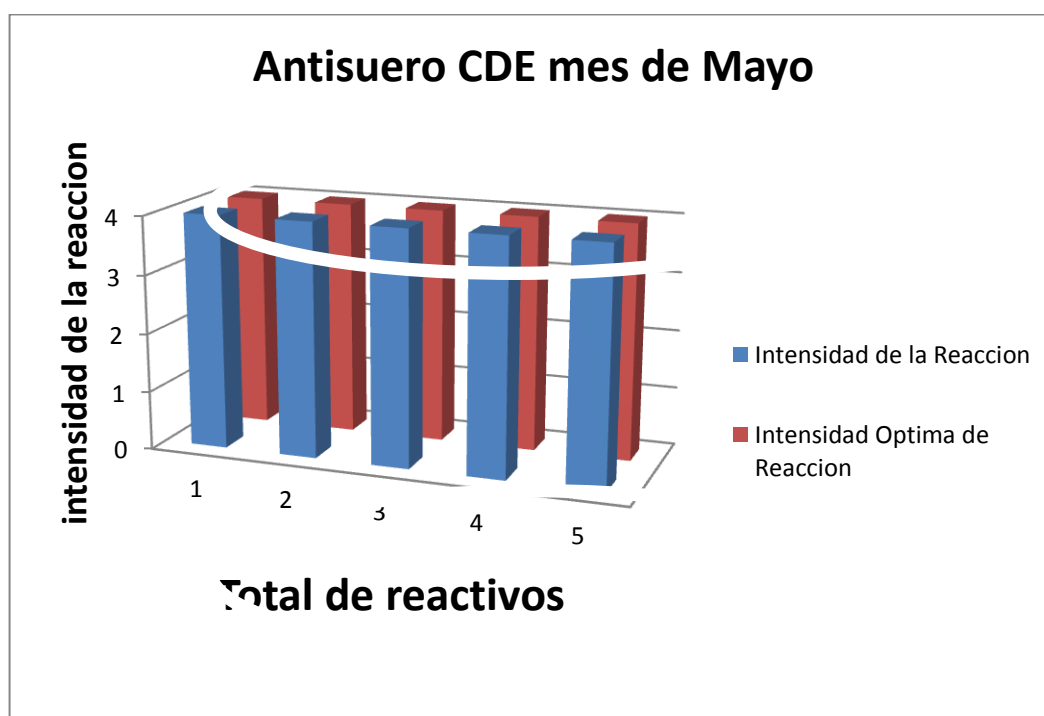
TABLA N°3 VALORACIÓN DEL ANTISUERO CDE EN MAYO

Antisueros Anti-CDE	Intensidad de la Reaccion	Intensidad Optima de Reaccion
1	4	4
2	4	4
3	4	4
4	4	4
5	4	4

FUENTE: Banco de sangre de Riobamba

Elaborado por: Silvana Ortega y Carina Palacios

GRAFICA N°3



FUENTE: Banco de sangre de Riobamba

Elaborado por: Silvana Ortega y Carina Palacios

INTERPRETACIÓN TABLA 3: los antisueros evaluados en este mes mantienen un poder de intensidad optima lo que le permite garantizar la confiabilidad de los ensayos a estos se le suma un adecuado control de la temperatura de conservación con un menor tiempo de exposición de los reactivos a temperatura ambiente.

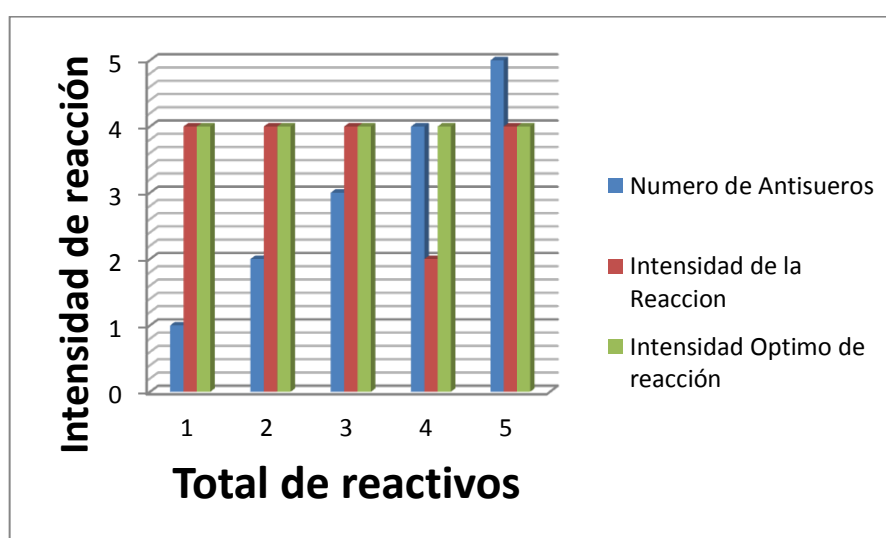
TABLA N°4 VALORACIÓN DEL REACTIVO ANTI-CDE – JUNIO

Numero de Antisueros	Intensidad de la Reaccion	Intensidad Optimo de reacción
1	4	4
2	4	4
3	4	4
4	2	4
5	4	4

FUENTE: Banco de sangre de Riobamba

Elaborado por: Silvana Ortega y Carina Palacios

GRAFICA N°4



FUENTE: Banco de sangre de Riobamba

Elaborado por: Silvana Ortega y Carina Palacios

INTERPRETACIÓN TABLA N°4:

En el mes de junio se evidencia que el reactivo expresa una intensidad de reacción de 2 cruces debido a que la demanda de exámenes que existió ocasiono que el reactivo de control CDE se exponga a tiempos prolongados a temperatura ambiente con esto ocasiona que la concentración de Ig G disminuya tomando en cuenta que es un reactivo de otra casa comercial a diferencia de los demás reactivos empleados para evaluar fenotipos del sistema Rh.

CAPITULO IV

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

- En el estudio sanguíneo, el área de inmunhematológica, permite detectar alteraciones de carácter inmunológico, con los elementos hemáticos, su adecuada evaluación se da con la ayuda de reactivos que permita facilitar el encuentro de los dos elementos importantes de la inmunohematología (antígenos y anticuerpos).
- Se califica a los reactivos cuando expresan una intensidad de reacción de 4 cruces, pero puede bajar su reactividad debido a una mala conservación de los mismos durante el transporte.
- Se concluye también que cuando existe una gran demanda de exámenes en el banco de sangre los reactivos son expuestos a tiempos prolongados a temperatura ambiente, de esta manera la concentración de Ig G disminuirá y se obtendrían resultados de laboratorio no confiables.
- De 5 reactivos valorados su reactividad en el mes de Marzo, 2 de ellos presentan una baja intensidad de reacción debido a que corresponden a otra casa comercial, lo que significa que no califican los antisueros con las exigencias para el servicio de la medicina transfusional.

RECOMENDACIONES

- El reporte adecuado de los análisis, mediante la utilización de equipos, reactivos y materiales de laboratorio se complementa cuando se valora de manera previa la calidad de los implementos a utilizarse en estos estudios.
- Utilizar siempre reactivos que califiquen a las exigencias de los equipos y complejidad de los análisis para un correcto resultado.
- Mantener una documentación de controle de todos los implementos en uso, defecto o reparación, para guiar la administración correcta de planificación preventiva y correctiva que mejoran de manera optima el trabajo de un laboratorio.

ANEXOS

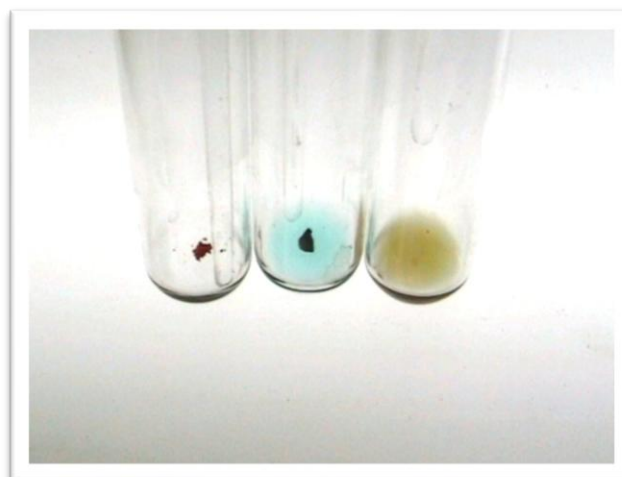
- **REACTIVOS DE GRUPOS SANGUÍNEOS**



- **GLÓBULOS ROJOS PARA DETERMINACIÓN DEL GRUPO SANGUÍNEO**



- **DETERMINACIÓN DE LOS GRUPOS ABO Y Rh D**



- **SOLUCIONES DE BAJA FUERZA IÓNICA (LISS)**



- **SOLUCIONES DE ENZIMAS PROTEOLÍTICAS**



- **SUERO ANTI-D**



- (EHRN) ENFERMEDAD HEMOLITICA DEL RECIÉN NACIDO



- FETO RH NEGATIVO



- DETERMINACIÓN DEL GRUPO SANGUÍNEO RH NEGATIVO



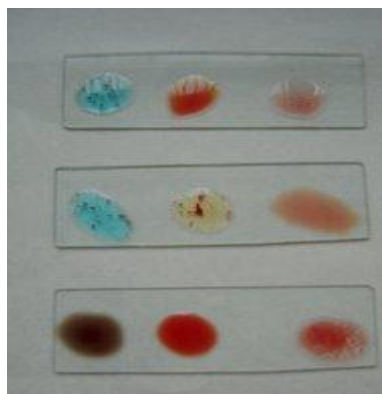
- **GRUPO SANGUÍNEO O**



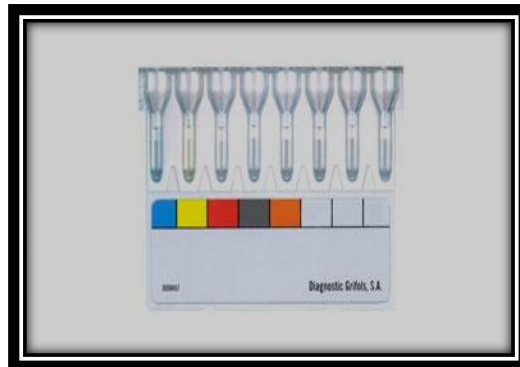
- **ANTI- D**



- **TIPIFICACIÓN SANGUÍNEA**



- GRUPO AB



- TIPO DE SANGRE



- ANTI- D



- **CALIDAD DE LOS REACTIVOS**



- **SUERO ANTIGLOBULINA HUMANA**



- **TIPIFICACIÓN RH**



- **INVESTIGACIÓN DE ANTICUERPOS IRREGULARES**



BIBLIOGRAFÍA

2. AUDESIRK, Teresa y Gerald. Biología 2. 4ta Edición. Editorial Prentice-Hall Panamericana, S.A. 1996. México.
3. BELCELLS, Alfonso: La Clínica y el Laboratorio. Ediciones Científicas y Técnicas. 1997. Barcelona-España
4. BERNARD, Jhon Henry: Diagnóstico y Tratamiento Clínico por el laboratorio, Editorial Salvat. México.
5. BEUTLER, Ernest y otros. Hematología de Williams. Tomo 1 y Tomo 2. Editorial Marban. 1999. México.
6. BROSTOFF, Jonathan y otros. Inmunología Clínica. Editorial Mosby/ Dayma Libros. Edición 1994.
7. GARCIA, Benjamín E. y otros. Hematología II. Hemostasia, Banco de Sangre y Control de Calidad. Tomo II. 2001. Editorial Paraninfo.
8. MASSON. Diagnóstico y tratamientos clínicos por el laboratorio. 9na edición. Editorial Ediciones Salvat. México.
9. Guía para la realización de pruebas inmunohematológicas. Autor Lic. Fernando Jaramillo.
10. MÜNCH, Lourdes y Ángeles Ernesto. Métodos y Técnicas de Investigación Científica. 5ta reimpresión. Editorial Trillas. 1997
11. PLATT, William: Atlas de Hematología en Color. Editorial JIMs. 1982. Barcelona-España.
12. Biblioteca de Consulta Microsoft ® Encarta ® 2004. © 1993-2003 Microsoft Corporation.
13. Inmunología: editorial Paraninfo
14. <http://salud.discapnet.es/enciclopedia/a/anemia.htm>
15. http://www.drscope.com/pac/mg/a5/mga5_p3.htm
16. http://www.shands.org/health/spanish/esp_imagepages/1491.htm
17. <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/003558.htm>
18. <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/000279.htm>