



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA TECNOLOGIA MÉDICA

ESPECIALIDAD LABORATORIO CLINICO E

HISTOPATOLOGICO

TÍTULO:

“UTILIZACIÓN DEL SAG-MANITOL Y CPDA EN HEMATÍES DEL GRUPO SANGUÍNEO ABO, PARA PROLONGAR SU VIGENCIA Y EFECTIVIDAD DE REACCIÓN COMO REACTIVOS CASEROS QUE IDENTIFIQUEN, ANTICUERPOS AL ENFRENTARLOS CON SUERO O PLASMA, UTILIZANDO MUESTRAS DE SANGRE DE ESTUDIANTES DEL TERCER AÑO DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO DE LA UNACH, DURANTE EL PERIODO DICIEMBRE 2011 A MARZO 2012”.

AUTOR(S):

Cándida Margoth Garófalo Morales

Gladys del Rocío Yépez Chapalvay

TUTOR(S):

Lic. Fernando Jaramillo

RIOBAMBA, ENERO 2013



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA: TECNOLOGÍA MÉDICA

ESPECIALIDAD: LABORATORIO CLÍNICO

TÍTULO:

“UTILIZACIÓN DEL SAG-MANITOL Y CPDA EN HEMATÍES DEL GRUPO SANGUÍNEO ABO, PARA PROLONGAR SU VIGENCIA Y EFECTIVIDAD DE REACCIÓN COMO REACTIVOS CASEROS QUE IDENTIFIQUEN, ANTICUERPOS AL ENFRENTARLOS CON SUERO O PLASMA, UTILIZANDO MUESTRAS DE SANGRE DE ESTUDIANTES DEL TERCER AÑO DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO DE LA UNACH, DURANTE EL PERIODO DICIEMBRE 2011 A MARZO 2012”.

APROBADO POR EL TRIBUNAL QUE LO INTEGRA

Presidente

.....

Miembro

Miembro

.....

.....

ACEPTACION DEL TUTOR

Por la presente hago constar que he leído el protocolo del proyecto de grado presentado por las señoritas Garófalo Morales Candida Margoth y Yépez Chapalvay Gladys del Rocío para optar al título de licenciadas en Laboratorio Clínico e Histopatológico y que acepto asesorar a los estudiantes en calidad de tutor, durante la etapa del desarrollo del trabajo hasta su presentación y evaluación.

Riobamba Enero del 2013

DERECHO DE AUTORIA

Nosotras Gladys Yépez y
Candida Garófalo somos
responsables de este contenido
de trabajo investigativo, los
derechos de autoría pertenecen
a la Universidad Nacional de
Chimborazo

DEDICATORIA

Candida Garófalo, dedico aquellas palabras primero a Dios por protegerme siempre aun en mi soledad estudiantil.

A mis padres y a mi abuelita por aquel apoyo incondicional que siempre me brindaron.

DEDICATORIA

Gladys Yépez dedico este trabajo a mi padre Jorge Yépez y a toda mi familia por todo el apoyo que me supieron brindar durante mi vida estudiantil con sus consejos y muestras de cariño para llegar a culminar con éxito esta carrera.

AGRADECIMIENTO

A la UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO por habernos acogido en su prestigiosa institución, al Licenciado Fernando Jaramillo en calidad de tutor de este trabajo investigativo.

A todas las personas que colaboraron de cualquier manera para la culminación de este trabajo investigativo.

RESUMEN

Mediante este trabajo se va responder a la hipótesis planteada, con la utilización del SAG manitol y CPDA, el cual va a prolongar la vida útil de los hematíes con lo que se conseguiría la estandarización de los concentrados hemáticos, el alargamiento de la caducidad y el incremento de la cantidad de glucosa por parte del CPDA y la protección de la membrana eritrocitaria por parte del SAG Manitol.

La medición de las características de las células seleccionadas con el SAG manitol y CPDA es el procedimiento de esta investigación, habrá que controlar las temperaturas de refrigeración, la concentración de dilución de los hematíes con la solución salina, el tiempo en que se mantiene las características de reconocimiento de anticuerpos, es parte de este trabajo investigativo.

Los preservantes adecuados permitirán prolongar la vida útil de las células caseras al enfrentarlos con suero o plasma, con el único objetivo de identificar anticuerpos del sistema ABO manteniendo siempre presente las características de reacción al emplear el uso de células comerciales.

Debido a la presencia de anticuerpos contra grupos sanguíneos (aglutininas naturales) y de antígenos de grupo sanguíneo a partir de eritrocitos, y del plasma (anticuerpos usando las pruebas de aglutinación simple).

Los grupos eritrocitarios están determinados, por la presencia más o menos abundante y más o menos profunda, de macromoléculas con capacidad antigénica en los eritrocitos (también llamados, hematíes o glóbulos rojos).

Los antígenos eritrocitarios se agrupan en sistemas de los cuales los de mayor importancia son el ABO y el Rh por considerarlos responsables de problemas transfusionales.

SUMMARY

Throughout this research it will answer the hypothesis, with the use of mannitol SAG and CPDA, which will extend the life of erythrocytes by this means will get to standardize the concentrated hematic, lengthening the expiration and the increase of the amount of glucose by the CPDA and the erythrocyte membrane protection by Mannitol SAG.

This meditation the characteristics of the selections cells with the Mannitol SAG and CPDA is the procedure of the investigation, there will be to control the refrigeration of temperature, the concentration of dilution of erythrocytes with saline solution, the time of it holds the characteristics of acknowledgment the antibodies, part is this investigative work.

Suitable preservatives will allow prolonging the life time of the home cells when they are confronted with serum or plasma, with the only aim of identifying antibodies present on ABO system always preserving reaction characteristics by making use of the commercial cells.

Due to the presence of antibodies to blood group (natural agglutinins) and blood group antigens from erythrocytes and plasma (antibodies using simple agglutination tests).

Erythrocyte group are determined by the more or less abundant presence and quite deep of macromolecules with erythrocytes capacity (also called, red blood cells or erythrocytes).

The erythrocyte antigens are grouped into systems of which the most important are the ABO and Rh considered responsible for transfusion problems.

INDICE GENERAL

ASPECTOS GENERALES.....	I
RESUMEN.....	..II
SUMMARY.....	..III
INDICE.....	..IV

CAPITULO I

INTRODUCCION.....1
-------------------	-------

1 PROBLEMATIZACION

1.1 Planteamiento		del
problema.....	4	
1.2 Formulación		del problema...
.....	4	
1.3 Objetivos		
1.3.1 Objetivo		
general.....	5	
1.3.2 Objetivo		
especifico.....	5	
1.4 Justificación		e
importancia.....	5	

CAPITULO II

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Posicionamiento

personal.....7

2.2 Antecedente de la

Investigación.....7

2.3 Fundamentación teórica

2.3.1 Anticoagulantes.....

....7

2.3.2 Clasificación y composición de los anticoagulantes

.....8

2.3.3 Antígeno.....

...13

2.3.3.1 Estructura.....

.15

2.3.3.2 Tipos de

antígeno.....15

Antígenos de acuerdo a su origen

2.3.3.2.1 Antígenos

Exogenos.....16

2.3.3.2.2 Antígenos Endogenos

.....17

2.3.3.2.3 Xenoantígenos.....

.17

2.3.3.2.4 Aloantígenos.....

.18

2.3.3.2.5 Autoantígenos.....

.18

2.3.3.2.6	Antígenos		
	tumorales.....		19
2.3.3.2.7	Alergenos.....		
	.20		
Antígenos de acuerdo como son vistos por los linfocitos			
2.3.3.2.8	Conformacionales.....		
	.20		
2.3.3.2.9	Continuos.....		
	...20		
2.3.3.2.10	Secuenciales.....		
	.21		
2.3.4	Anticuerpos.....		
	.21		
2.3.4.1	Función.....		
	...22		
2.3.4.2	Estructura.....		
	.22		
2.3.4.3	Determinantes	antigénicos	
		23
2.3.5	Inmunoglobulinas.....		
	...26		
2.3.5.1	Función	de las	Inmunoglobulinas
		27
2.3.5.2	Estructura		de
	Inmunoglobulinas.....		28
2.3.5.3	Clases	de	Inmunoglobulinas
		32
2.3.5.3.1	Inmunoglobulina		
	IgG.....		32

2.3.5.3.2	Inmunoglobulina		
	IgA.....	34	
2.3.5.3.3	Inmunoglobulina		
	IgE.....	36	
2.3.5.3.4	Inmunoglobulina		
	IgD.....	37	
2.3.5.3.5	Inmunoglobulina		
	IgM.....	38	
2.3.6	Sistemas de grupos sanguíneos		
	ABO.....	39	
2.3.6.1	Sistema		
	ABO.....	42	
2.3.6.2	Antígenos del sistema		
	ABO.....	43	
2.3.6.3	Grupos y sub grupos del sistema ABO		
	45	
2.3.6.4	Sistema		
	Rh.....	46	
2.3.6.5	Antígenos del sistema		
	Rh.....	48	
2.3.6.6	Técnica in vitro de la tipificación directa e inversa de ABO		
2.3.6.6.1	Metodo directo		
	ABO.....	49	
2.3.6.6.2	Metodo inverso		
	ABO.....	51	
2.3.6.6.3	Determinacion de Rh		
	(Tecnica).....	53	
2.3.7	Determinacion en tubo de grupo sanguíneo		
	54	
2.3.8	Preparación de células caseras		

2.3.8.1	Lavado de Hematíes.....	55
2.3.8.2	Suspensión de las células lavadas.....	58
2.3.8.3	Técnica para la identificación de anticuerpos del sistema ABO (Prueba Inversa).....	61
2.4	Definición de términos básicos.....	64
2.5	Hipótesis y variables	
2.5.1	Hipótesis.....	.67
2.5.2	Variables.....	.67
2.6	Operación de las variables.....	68

CAPITULO III

3 MARCO METODOLÓGICO

3.1	Método.....	.69
3.2	Tipo de Investigación.....	70
3.3	Población y muestra	
3.3.1	Población.....	70
3.3.2	Muestra.....	.71

3.4	Técnicas e instrumentos de recolección de datos	
3.4.1	Técnicas.....	.71
3.4.2	Instrumentos.....	.71
3.5	Técnicas para el análisis e interpretación de resultados71

CAPITULO IV

4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1	Conclusiones.....	.91
4.2	Recomendaciones.....	.91

CAPITULO V

5	BIBLIOGRAFIA.....	...93
6	ANEXOS.....	.95
6.1	Totalidad de ensayos realizados durante el periodo diciembre 2011 a marzo 2012.....	95
6.2	Fotos.....	.99

INDICE DE GRAFICOS

Figura # 1: Esquema de la clasificación de Anticoagulantes

Figura # 2: Esquema del anticoagulante EDTA

Figura # 3: Esquema del citrato de sodio

Figura # 4: Esquema de heparina

Figura # 5: Esquema del oxalato de potasio

Figura # 6: Esquema *de Antígenos*

Figura # 7: Esquema del antígeno

Figura # 8: Esquema del antígeno exógeno

Figura # 9: Esquema del antígeno endógeno

Figura # 10: Esquema del Xenoantígeno.

Figura # 11: Esquema del Autoantígeno.

Figura # 12: Esquema del Antígeno Tumoral

Figura # 13: Esquema de antígeno alérgeno

Figura # 14: Esquema de Anticuerpos.

Figura # 15: Esquema de la estructura de Anticuerpos

Figura # 16: Esquema de determinantes antigénicos

Figura # 17: Esquema del isotipo

Figura # 18: Las Inmunoglobulinas.

Figura # 19: Esquema de la estructura de las Inmunoglobulinas.

Figura # 20: Esquema de la cadena ligera de Inmunoglobulina.

Figura # 21: Esquema de la cadena pesada.

Figura # 22: Esquema de la Inmunoglobulina IgG.

Figura # 23: *Esquema de la Inmunoglobulina IgA.*

Figura # 24: Esquema de la Inmunoglobulina IgE.

Figura # 25: Esquema de la Inmunoglobulina IgD

Figura # 26: Esquema de la Inmunoglobulina IgM.

Figura # 27: Esquema de grupos sanguíneos.

Figura # 28: Esquema de los antígenos del sistema ABO.

Figura # 29: Esquema del factor Rh.

Figura # 30: *Esquema de tipificación sanguínea.*

Figura # 31: *Esquema de sistema ABO.*

Figura # 32: Esquema de reactivos comerciales.

Figura # 33: Esquema de lavado de hematíes 1.

Figura # 34: Esquema de lavado de hematíes 2.

Figura # 35: Esquema de suspensión de células lavadas.

Figura # 36: Esquema de reactivo ABO.

Figura # 37: Esquema de células ABO.

Figura # 38: Esquema de la prueba directa.

Figura # 39: Esquema de la prueba inversa.

INDICE DE TABLAS

Tabla N°1: Ensayo registrado por mes.

Tabla N°2: Cantidad de grupos sanguíneos identificados.

Tabla N°3: Registro de temperatura de las refrigeradoras que conservan a las células con SAG manitol y CPDA.

Tabla N°4: Registro de temperatura de Enero 2012.

Tabla N°5: Registro de temperatura de Febrero 2012.

Tabla N°6: Registro de temperatura de Marzo 2012.

Tabla N°7: Relación de los valores promedios de temperatura.

Tabla N°8: Cantidad de hematíes con CPD.

Tabla N°9: Cantidad de hematíes con SAG manitol.

Tabla N°10: Ensayo de conservación de células a 7°C.

Tabla N°11: Ensayo de conservación de células a 5°C.

Tabla N°12: Ensayo de conservación de células a 4°C.

Tabla N°13: Ensayo de conservación de células a 5, 6 y 7°C.

Tabla N°14: Esquema de anticuerpos en grupos sanguíneos.

Tabla N°15: Esquema de la intensidad de reacción con CPD y SAG manitol.

INDICE DE GRAFICOS DE TABLAS

Grafico # 1: Esquema de ensayos registrados por mes.

Grafico # 2: Esquema de la cantidad de grupos sanguíneos.

Grafico # 3: Esquema del porcentaje de grupos sanguíneos.

Grafico # 4: Esquema de temperatura de Diciembre 2011.

Grafico # 5: Esquema de temperatura de Enero 2012.

Grafico # 6: Esquema de temperatura de Febrero 2012.

Grafico # 7: Esquema de temperatura de Marzo 2012.

Grafico # 8: Esquema de temperatura promedio de Diciembre a Marzo.

Grafico # 9: Esquema de ensayos de conservación de células con CPD y SAG-manitol.

Grafico # 10: Esquema de ensayos de conservación de células a 5°C.

Grafico # 11: Esquema de ensayos de conservación de células a 4°C.

Grafico # 12: Esquema de la vigencia de hematíes con SAG manitol.

Grafico # 13: Esquema de la intensidad de reacción con CPD y SAG manitol.

INDICE DE FOTOS

Foto #1: Lavado de hematíes (adicionando 1ml de hematíes).

Foto #2: Lavado de hematíes (añadir solución salina).

Foto #3: Lavado de hematíes (centrifugación 2min a 3000rpm).

Foto #4: Lavado de hematíes (retirar sobrenadante).

Foto #5: Lavado de hematíes (repetir 3 veces el proceso).

Foto #6: Prueba Directa e Inversa (reactivos caseros).

Foto #7: Prueba Directa e Inversa (añadir 1 gota de GR).

Foto #8: Prueba Directa e Inversa (añadir 1 gota de RGT).

Foto #9: Prueba Directa e Inversa (centrifugar a 1000 rpm x 15-30 seg).

Foto #10: Prueba Directa e Inversa (observar resultados).

CAPITULO I

INTRODUCCION

En la determinación de los grupos sanguíneos, se utilizan reactivos de tipo comercial. La tipificación sanguínea se basa en la reacción de hemaglutinación, cuando esta es observada se hace referencia a la presencia de antígenos, en la membrana de los glóbulos rojos, para poder diferenciarlo de los demás grupos sanguíneos.

Los métodos empleados en la tipificación sanguínea es el llamado directo e indirecto, el primero enfrenta células o eritrocitos en estudio, que serán enfrentados con anticuerpos de tipo comercial, el reactivo que reaccione junto a la muestra determinará el nombre del antígeno presente.

Este método directo se correlaciona con el método inverso, en cual se basa en la misma reacción de hemaglutinación, con la diferencia de que aquí se enfrenta, hematíes conocidos que actuarán como reactivos junto con la muestra que será suero o plasma, en esta se evaluará los anticuerpos, entonces en el tubo identificado con la inicial de la célula conocida dará el nombre del anticuerpo, que posee el suero o plasma en estudio.

Los reactivos empleados para el método directo e inverso, son de tipo comercial, es decir que en su composición existirá preservantes, que les permiten tener un tiempo, de vigencia prolongado, a más de la

conservación a temperaturas de refrigeración, que son necesarias para mantener la estabilidad de reacción.

Las células para identificar a los anticuerpos plasmáticos, son las llamadas células comerciales, estas tienen vigencia de 21 o 30 días, dependiendo del preservante utilizado, a más que la diferencia radica en el costo de las mismas, utilizar estas células resulta una alta inversión para los laboratorios clínicos, pero justa utilización en los laboratorios destinados a la clasificación de la sangre para la transfusión.

La preparación de células caseras, es uno de los recursos inmediatos para emplearlos en los estudios de anticuerpos, pero su limitación está en la vigencia en tiempo escaso, debido al faltante del componente que preserve por más días a estas células, esta investigación no se dirige a colocar el preservante directamente, sino a buscar un elemento anticoagulante que le de la característica de preservar por más días a estas células.

Medir las características de las células seleccionadas con el SAG manitol y CPDA es el objetivo de esta investigación, habrá que controlar las temperaturas de refrigeración, la concentración de dilución de los hematíes con la solución salina, el tiempo en que se mantiene las características de reconocimiento de anticuerpos, es parte de este trabajo investigativo.

Al identificar las características mencionadas, se podrá utilizar estas células llamadas caseras por más tiempo, manteniendo las características reaccionantes de las comerciales, optimizando de esta manera la

inversión en la adquisición y que se pueda además emplearlas en los laboratorios de docencia de la UNACH.

El Capítulo I contiene la problematización, el cual hace referencia al planteamiento y formulación del problema, además consta de objetivos generales y específicos, al final de este capítulo concluye en una justificación e importancia.

En el Capítulo II contiene la fundamentación teórica con la finalidad de ampliar mayor información y conocimiento, consta de una definición de términos básicos, haciendo referencia con las variables de la investigación y su operacionalización.

El capítulo III contiene lo referente al marco metodológico, tipo de investigación, por lo tanto esta investigación se desarrollara con el método deductivo inductivo, con un procedimiento analítico, sintético y explicativo, el tipo de investigación será descriptiva.

Serán expuestas también las técnicas empleadas para el análisis, e interpretación de los resultados.

1. PROBLEMATIZACION

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La identificación de los grupos sanguíneos deben ser realizadas por los métodos llamados directo e inversos, estos métodos permiten correlacionar los resultados de la tipificación sanguínea, en muchos laboratorios no se los practica debido a la fuerte inversión que se debe emplear para ejecutar estos ensayos.

Sobre todo en los reactivos para la prueba inversa estos son llamados o reconocidos como células comerciales, incluso su vigencia se limita a máximo 30 días, pasados este tiempo son totalmente obsoletos y emplearlos perjudicaría totalmente a la calidad de los resultados.

Utilizar las células caseras o también identificadas como células preparadas en el laboratorio, es la alternativa inmediata, su limitación está en la vigencia a máximo tres días, emplear el SAG manitol para prolongar su vigencia con resultados óptimos es el interés de esta investigación.

1.2 FORMULACION DEL PROBLEMA

¿Qué útil llega a ser el empleo del SAG-MANITOL y CPDA en hematíes del grupo sanguíneo ABO, para prolongar su vigencia y efectividad de reacción como reactivos caseros que identifiquen, anticuerpos al enfrentarlos con suero o plasma?

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Utilizar el SAG-MANITOL y CPDA en hematíes del grupo sanguíneo ABO, para prolongar su vigencia y efectividad de reacción como reactivos caseros que identifiquen, anticuerpos al enfrentarlos con suero o plasma, utilizando muestras de sangre de estudiantes del tercer año de la carrera de Laboratorio Clínico de la UNACH, durante el periodo Diciembre 2011 a Marzo 2012

1.3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Diferenciar la estructura de los grupos sanguíneos del sistema ABO.
- Aplicar correctamente técnicas que permitan identificar a los antígenos y anticuerpos de los grupos sanguíneos ABO.
- Dosificar adecuadamente la cantidad exacta del SAG Manitol y CPDA en las suspensiones hemáticas.
- Realizar vigilancia y control de los resultados obtenidos al utilizar células caseras con SAG manitol y CPDA

1.4 JUSTIFICACION E IMPORTANCIA

El desarrollo de esta investigación, consiste en buscar la dosis adecuada del anticoagulante que permita prolongar la vida útil de las células caseras al enfrentarlos con suero o plasma, con el objetivo de identificar anticuerpos del sistema ABO, manteniendo las características de reacciones cuando se emplea células comerciales.

Los componentes que se utilizaran son el SAG Manitol y el CPDA, estos actúan como anticoagulantes que preservan a la sangre en las bolsas recolectoras, que son utilizadas para transfusiones sanguíneas.

El tener células caseras que perduren más tiempo de lo usual con las mismas características de efectividad y titulación de la reacción a bajo costo, beneficia en cuanto a la disposición de este reactivo en las prácticas de la tipificación sanguínea, y su calidad de reacción.

CAPITULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1 POSICIONAMIENTO PERSONAL

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

2.2 ANTECEDENTE DE LA INVESTIGACION

Al realizar una indagación minuciosa del tema de investigación en las fuentes bibliográficas de la UNACH, se concluye que no se encontró ningún otro tema de dicha investigación.

2.3 FUNDAMENTACION TEORICA

2.3.1 ANTICOAGULANTES

Los anticoagulantes son sustancias químicas que actúan como bloqueantes de la coagulación de la agregación de plaquetas.

Se utiliza para romper el trombo o bien para prevenir que los trombos se repitan.

Existen dos tipos de anticoagulantes, los anticoagulantes para uso "in vitro" actúan como quelantes de ion Ca_{2+} , de manera que este puede participar en la formación de los complejos que activan al factor X, y se

interrumpe la cascada de coagulación casi en su inicio. Y los que tienen “in vivo” actúan de manera un poco más complicada.¹

CODIGO de COLOR	ADITIVO	MUESTRA	ANALISIS
 Rojo	Sin Aditivo	Suero	Química Serología
 Rojo/Gris  Amarillo Tapa Hemogard	Gel/Sin Aditivo	Suero	Química Serología
 Celeste	Citrato	Plasma	Coagulación
 Lila	EDTA	Plasma	Hematología
 Verde	Heparina	Plasma	Química Serología
 Negro	Citrato	Plasma	V.H.S.
 Gris	Fluoruro	Plasma	Glucosa

Figura # 1: Esquema de la clasificación de Anticoagulantes
Fuente: <http://ahemav6.blogspot.com/2010/08/anticoagulantes.html>

2.3.2 CLASIFICACIÓN Y COMPOSICIÓN DE LOS ANTICOAGULANTES.

Los principales anticoagulantes son: ²

EDTA: (ETILEN-DIAMINO-TETRA-ACETATO) (tapa violeta):

Esta sustancia actúa mediante un efecto quelante sobre el ión calcio (Ca²⁺, lo que impide la formación de los complejos pro coagulantes en los

¹Jorge Suardiaz. Laboratorio Clínico. La Habana: Ciencias Medicas, 2004

²Andrejuskorolkovas, Joseph H. Burckhalter. Química Farmacéutica. Barcelona: Editorial Reverté.S.A.1983. pág. 433-435.

que este ión participa. Este anticoagulante se utiliza fundamentalmente para la realización de recuentos celulares, sobre todo en autoanalizador.



Figura #2 : Esquema del anticoagulante EDTA

Fuente: <http://www.google.com.ec/imgres?q=edta+anticoagulante>

Tiene la ventaja de permitir la realización del hematocrito y de frótis sanguíneo hasta dos horas después de la extracción de la muestra.

También impide la aglutinación de las plaquetas.

CITRATO DE SODIO (tapa azul):



Figura #3: Esquema del citrato de sodio

Fuente: <http://www.google.com.ec/search?tbm=isch&hl=es&source=hp&biw=1366&bih=536&q=edta+anticoagulante>

El citrato de sodio se usa como un coagulante en los tubos usados para tomar sangre en ciertos exámenes de laboratorio que miden el tiempo de coagulación sanguínea, entre ellas el Tiempo de Tromboplastina Parcial Activado y el tiempo de protrombina.

La concentración de citrato de sodio utilizada como anticoagulante es una variable preanalítica importante porque puede variar el tiempo de coagulación del plasma sanguíneo ya que la cantidad de citrato presente afecta la concentración de calcio utilizada en estas pruebas, generalmente se encuentra en concentraciones al 3.8 %.

HEPARINA (tapa verde o blanca):



Figura #4: Esquema de heparina

Fuente: <http://www.google.com.ec/search?tbm=isch&hl=es&source=hp&biw=1366&bih=536&q=edta+anticoagulante>

La heparina es una sustancia que se encuentra en la mayoría de los tejidos, puede existir heparina con concentraciones de sodio o litio. En general, la heparina con litio es utilizada para estudios de química y la heparina sódica se utiliza para estudios de linfocitos.

Además la heparina impide la coagulación de la sangre in vitro e in vivo, se une al inhibidor de la coagulación antitrombina III, produce un cambio conformacional de la molécula que acelera más de 1000 veces la unión de la antitrombina III a los factores activados principalmente la trombina y el factor X, con menor intensidad al XI y XII.

OXALATO DE POTASIO



Figura # 5: Esquema del oxalato de potasio

Fuente: <http://www.google.com.ec/search?tbm=isch&hl=es&source=hp&biw=1366&bih=536&q=edta+anticoagulante>

El oxalato de potasio solo se utiliza frecuentemente como anticoagulante en bioquímicos. Se utiliza 0.01ml de una solución al 30 por 100 para cada ml de sangre.

Los oxalatos de amonio y de potasio se utilizan bajo forma de la mezcla de 3 partes del primero y dos partes del segundo (mezcla de Heller) y Paul de Wintrobe. La sal de amonio aumenta el volumen de los glóbulos rojos y la de potasio lo disminuye.

Con la proporción utilizadas, los eritrocitos no se alteran, actúan por fijación de calcio.

CPDA 1(citrato fosfato dextrosa adenina 1)

El citrato, el cual previene la activación de la cascada de la coagulación mediante su unión al calcio.

La dextrosa para proveer una fuente de energía para los eritrocitos. Pero durante el proceso de esterilización a causa del pH alcalino, se producía la cristalización, por lo que había que esterilizar por separado el citrato y la glucosa y posteriormente mezclarlos.

A principios de la década del 40 se disminuyó el pH de la muestra por la adición de ácido cítrico. La nueva solución obtenida: ácido-citrato-dextrosa (ACD) con un pH bajo, podía esterilizarse sin cristalizarse y se convirtió en el anticoagulante estándar. Luego se desarrolló la mezcla citrato-fosfato-dextrosa (CPD).

En ella se adiciona el ACD solución reguladora fosfato inorgánico para aumentar la producción de ATP y así incrementar la viabilidad de los eritrocitos.

El CPD, además, requiere menos ácido cítrico, por lo que el pH es mayor, lo que permite que el 2,3 difosfoglicerato (2,3 DPG) se mantenga mejor durante el almacenamiento de los eritrocitos y no se destruya durante 2 semanas.

El 2,3 DPG promueve la liberación de oxígeno de la Hb de los eritrocitos a los tejidos. Después se adicionó adenina a los anticoagulantes ACD y CPD, y se aumentó el tiempo máximo de almacenamiento de 21 días a 35 días de 2 a 6 oC.

La adenina provee el sustrato a los eritrocitos para aumentar la producción de ATP y, por tanto, aumentar la viabilidad de estos.³

CPDA: Citrato-Fosfato-Dextrosa Adenina (glucosa).

El anticoagulante CPDA contiene dextrosa, citrato, adenina y fosfato que sirven para mantener por mayor tiempo vivos los glóbulos rojos y para mantener el volumen de sangre en la bolsa constante.

Los glóbulos rojos se mantienen en solución con el anticoagulante preservativo CPDA, tienen un hematocrito de aproximadamente 70% y una vida efectiva de 35 días.

Retrasa la pérdida de 2,3-DPG, mejorando la función y ligeramente la supervivencia al incrementar el pH.⁴

SAG-M [Salina, adenina, glucosa, manitol]

Son soluciones aditivas, para preservación de los glóbulos rojos por 42 días. La bolsa de Sag-Manitol es utilizada para la mejor conservación del concentrado de glóbulos rojos, con reducción de la tasa de hemólisis y mejor fluidez en la transfusión.

2.3.3 ANTIGENO

Un antígeno es cualquier sustancia, endógena o exógena, que desencadena (o estimula) la producción de anticuerpos por parte del sistema inmunológico. Generalmente los antígenos suelen ser moléculas

³ Celso Cruz. Laboratorio Clínico. Ciencias Médicas, 2004. Pág. 406-409.

⁴ P.L.Mollison. Transfusión de sangre en Medicina Clínica. Editorial reverté, S.A. 1987. Pág. 177-180.

de proteínas o polisacáridos, formando parte de bacterias, de virus y otros microorganismos.



Figura # 6: Esquema de Antígenos.

Fuente: (<http://www.slideshare.net/-antgenos-del-sistema-rh>)

Los antígenos no-microbianos exógenos (ajenos al individuo) pueden incluir polen, clara de huevo, y proteínas de tejidos y órganos trasplantados, o proteínas en la superficie de glóbulos rojos transfundidos. Cada antígeno está definido por su anticuerpo, los cuales interactúan por complementariedad espacial.

La zona donde el antígeno se une al anticuerpo recibe el nombre de epítipo o determinante antigénico, mientras que el área correspondiente de la molécula del anticuerpo es el parátipo.

Además es una sustancia reconocida por el sistema inmune mediante la activación de linfocitos, esta puede inducir a la producción de anticuerpos específicos que determinan una reacción observable.⁵

⁵David Male. Jonathan Brostoff. David B. Roth. IvanRoitt. Inmunología. Séptima Edición. Elsevier España. S.A. 2007. Pag. 10-11.

2.3.3.1 ESTRUCTURA



Figura #7: Esquema del antígeno

Fuente: <http://www.google.com.ec/imgres?q=antigeno&hl=es&gbv=2&biw=1366&bih>

Un antígeno está estructurado ya sea por uno o varios epítomos o determinantes antigénicos, cada uno de los cuales es reconocido de forma específica por un receptor concreto como es el anticuerpo, dentro de su estructura se incluyen las moléculas que, previa presentación antigénica, son capaces de desencadenar la activación de células T citotóxicas capaces de destruir las células diana sin la intervención de anticuerpos.

2.3.3.2 TIPOS DE ANTÍGENOS.

Estos Antígenos se distribuyen de acuerdo a su origen y de acuerdo a como son vistos por los linfocitos.

- De acuerdo a su origen
 - Exógenos
 - Endógenos
 - Xenoantígenos
 - Aloantígenos
 - Autoantígenos
 - Antígenos tumorales

Alérgenos

- De acuerdo como son vistos por los linfocitos
Ag conformacionales: continuos, discontinuos
Ag secuenciales

ANTIGENOS DE ACUERDO A SU ORIGEN

2.3.3.2.1 ANTÍGENOS EXÓGENOS.

Son aquellos antígenos que han entrado al cuerpo desde el exterior, por ejemplo mediante inhalación, ingestión o inyección.

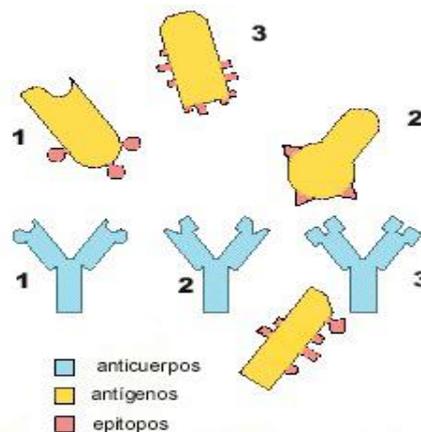


Figura #8: Esquema del antígeno exógeno

Fuente: <http://www.google.com.ec/imgres?q=antigeno+exogeno>

Son aquellos antígenos que han entrado al cuerpo desde el exterior, por ejemplo mediante inhalación, ingestión o inyección. Los mismos son tomados en las células presentadoras de antígenos mediante endocitosis o fagocitosis, (CPAs) y procesados en fragmentos. Las CPAs entonces presentarán esos fragmentos a linfocitos T colaboradores (CD4+) con ayuda de moléculas de histocompatibilidad de clase II.

2.3.3.2 ANTÍGENOS ENDÓGENOS

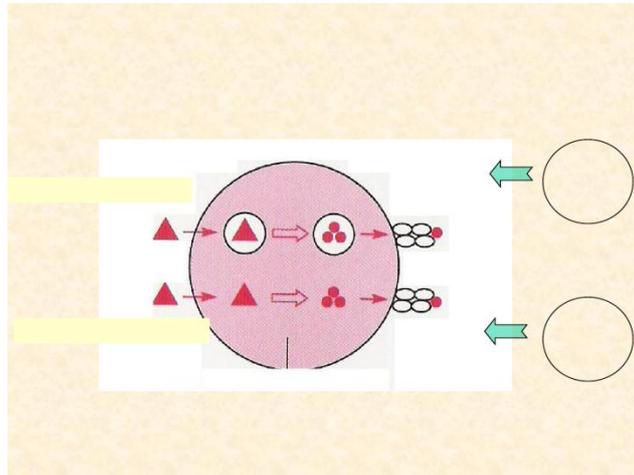


Figura #9: Esquema del antígeno endógeno
Fuente: <http://dc218.4shared.com/doc/7BmZeDjm/preview.html>

Son aquellos que han sido generados al interior de una célula como resultado del metabolismo celular normal, o debido a infecciones virales o bacterianas intracelulares.

Los fragmentos de esos antígenos son presentados sobre la superficie celular en un complejo con moléculas MHC de clase I. Si son reconocidos por linfocitos T citotóxicos (CD8+) activados, éstos comenzarán a secretar varias toxinas que causarán la muerte celular de la célula infectada.

2.3.3.2.3 XENOANTIGENOS

Son todos los procedentes de plantas, microorganismos e individuos de especies distintas.

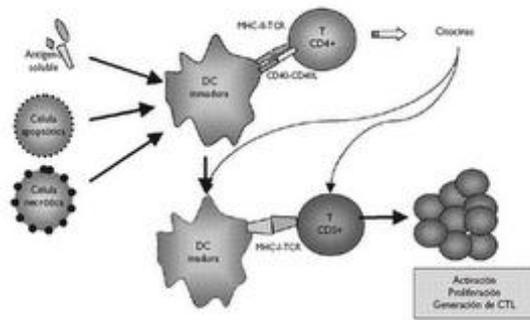


Figura #10: Esquema del xenoantígeno.
Fuente: <http://www.google.com.ec/imgres?q=xenoantigeno>

2.3.3.2.4 ALOANTIGENO

Son procedentes de individuos de la misma especie pero de constitución genética diferente.⁶

2.3.3.2.5 AUTOANTÍGENO

Es una proteína o complejo de proteínas normal, algunas veces ADN o ARN, que es reconocido por el sistema inmunológico. Ocurre en pacientes que sufren de alguna enfermedad autoinmune específica.



Figura #11: Esquema del autoantígeno.
Fuente: <http://m7-2thebest2009.blogspot.com/2009/04/antigenos-anticuerpos.html>

⁶<http://es.wikipedia.org/wiki/Ant%C3%ADgeno>

Estos antígenos no deberían, en condiciones normales, activar el sistema inmune, pero debido principalmente por factores genéticos y ambientales, se ha perdido una correcta tolerancia inmunológica en esos pacientes.

2.3.3.2.6 ANTÍGENOS TUMORALES

Son aquellos antígenos presentados por moléculas MHC I o MHC II que se encuentran en la superficie de células tumorales. Cuando este tipo de antígenos son presentados por células provenientes de un tumor, en este caso serán llamadas antígenos tumorales específicos y generalmente son resultado de una mutación específica.

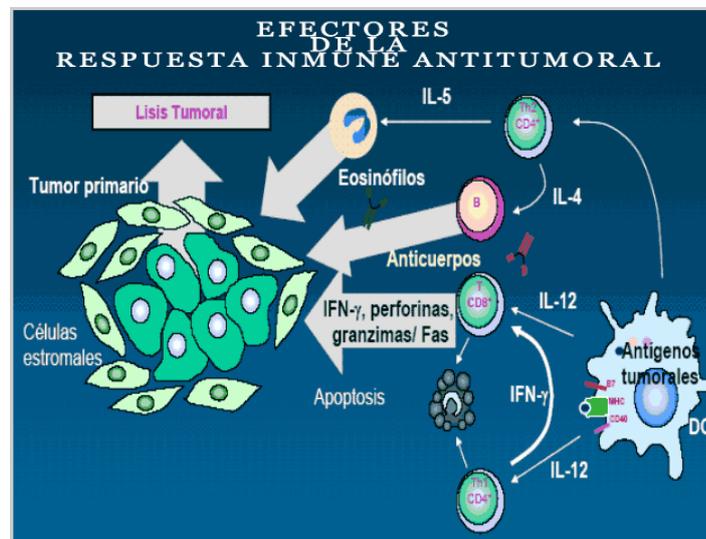


Figura #12: Esquema del antígeno tumoral
Fuente: <http://www.google.com.ec/imgres?q=antigeno+TUMORAL>

2.3.3.2.7 ALERGENO

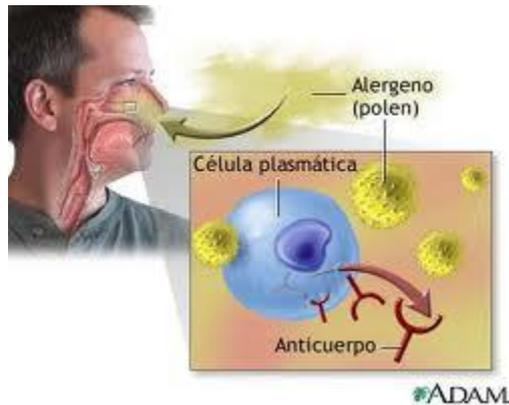


Figura #13: Esquema de antígeno alérgeno

Fuente: <http://www.google.com.ec/imgres?q=antigeno+ALERGENO>

Un alérgeno es aquella sustancia que causa una reacción alérgica. La acción resultante puede producirse luego de la ingestión, inhalación, inyección, o contacto con la piel.

DE ACUERDO COMO SON VISTOS POR LOS LINFOCITOS

2.3.3.2.8 CONFORMACIONALES

Son epitopes no continuos en la cadena primaria de aminoácidos, que dependen básicamente de la estructura de la molécula, la cual varía según la solución en la cual este contenida. Los anticuerpos contra estas estructuras no se unen a péptidos aislados sino a proteínas nativas.

2.3.3.2.9 CONTINUOS

Virtualmente, cada porción de la molécula de mioglobina globalmente expuesta al medio, está implicada en la inmunogenicidad. Es decir, que cualquier parte de la proteína puede ser inmunogénica siempre y cuando pueda estar en contacto con el sistema inmune.

2.3.3.2.10 SECUENCIALES

Dependen básicamente de la estructura primaria de las proteínas, y los anticuerpos que reconocen estos lugares pueden ser inhibidos por péptidos de la molécula, normalmente cuentan con uno o varios aminoácidos inmunodominantes.

2.3.4 ANTICUERPOS

Los anticuerpos también conocidos como inmunoglobulinas (Ig) son glicoproteínas del tipo gamma globulina. Pueden encontrarse de forma soluble en la sangre u otros fluidos corporales de los vertebrados, disponiendo de una forma idéntica que actúa como receptor de los linfocitos B y son empleados por el sistema inmunitario para identificar y neutralizar elementos extraños tales como bacterias, virus o parásitos.

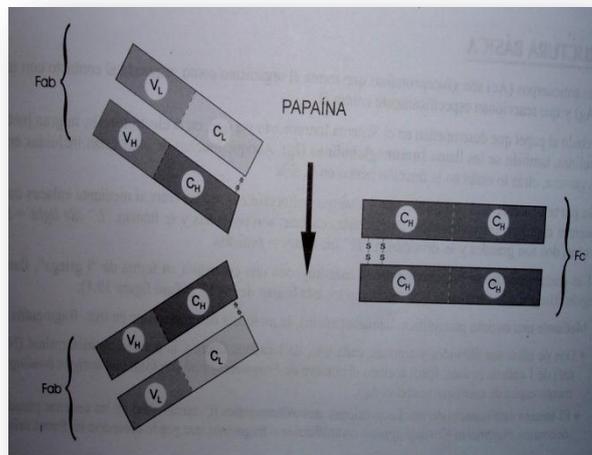


Figura # 14: Esquema de Anticuerpos.

Fuente: <http://recursos.cnice.mec.es/biosfera/alumno/2bachillerato/inmune/contenidos11>.

El anticuerpo típico está constituido por unidades estructurales básicas, cada una de ellas con dos grandes cadenas pesadas y dos cadenas ligeras de menor tamaño, que forman, por ejemplo, monómeros con una unidad, dímeros con dos unidades o pentámeros con cinco unidades. Los

anticuerpos son sintetizados por un tipo de leucocito denominado linfocito B.

Existen distintas modalidades de anticuerpo, isotipos, basadas en la forma de cadena pesada que posean.

Se conocen cinco clases diferentes de isotipos en mamíferos que desempeñan funciones diferentes, contribuyendo a dirigir la respuesta inmune adecuada para cada distinto tipo de cuerpo extraño que encuentran.⁷

2.3.4.1 FUNCIÓN

La función de los anticuerpos consiste en unirse a los antígenos y presentarlos a células efectoras del sistema inmune.

Esta función está relacionada con la estructura de los distintos tipos de inmunoglobulinas.

2.3.4.2 ESTRUCTURA

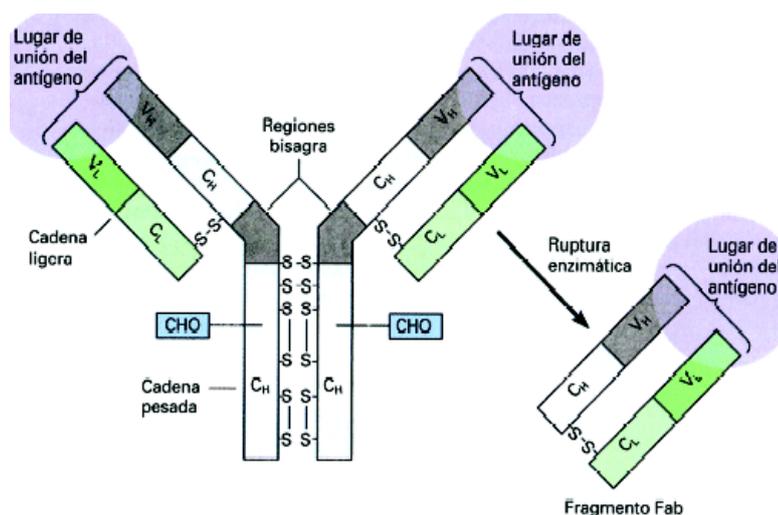


Figura #15: Esquema de la estructura de Anticuerpos
Fuente: <http://es.wikipedia.org/wiki/Anticuerpos>

⁷Susana RiorentinoGomez, Nelly Susana Rueda Ardila, Maria Fernanda Gutierrez.
La Inmunología en el diagnóstico clínico. Javeriano: Edición Javeriano. 1994. pag: 31-36.

Está estructurado por una parte proteica: 4 cadenas polipeptídicas unidas entre sí por enlaces covalentes y puentes disulfuro en forma de “Y”:

2 cadenas “L”: pequeñas.

2 cadenas “H”: grandes.

Región bisagra: zona de unión de los tres brazos de la “Y”

2.3.4.3 DETERMINANTES ANTIGENICOS

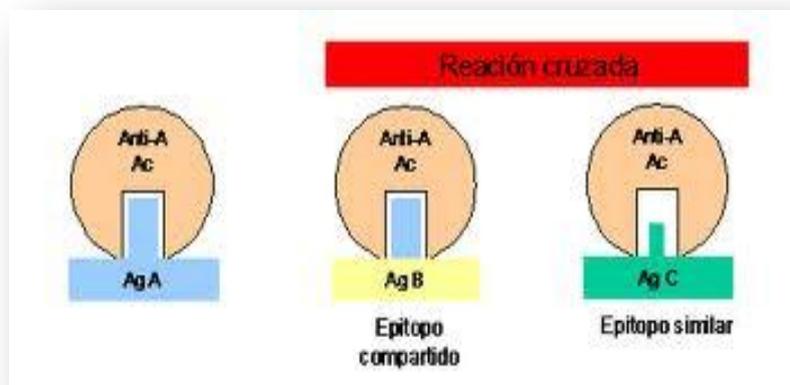


Figura #16: Esquema de determinantes antigénicos

Fuente: http://www.grupoprevenir.es/analisis_clinicos/anticuerpos.html

- Determinantes (epítopo)
- Isotipo
- Alotipo
- Idiotipo

EPÍTOPO O DETERMINANTE ANTIGÉNICO

Es la porción de una macromolécula que es reconocida por el sistema inmunitario, específicamente la secuencia específica al que se unen los anticuerpos, receptores de las células B o de células T.

Aunque se piensa que los epítomos provienen de proteínas no propias, las secuencias que se obtienen del huésped que pueden ser reconocidas son también clasificadas como epítomos.⁸

ISOTIPOS

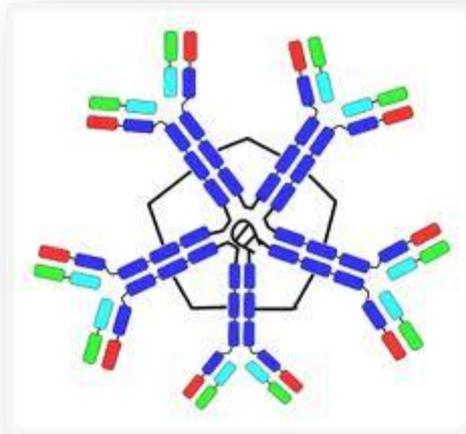


Figura #17: Esquema del isotipo

Fuente: <http://www.google.com.ec/search?hl=es&q=isotipos>

Los anticuerpos pueden presentarse en distintas variedades conocidas como isotipos o clases. En mamíferos placentados existen cinco isotipos de anticuerpos conocidos como IgA, IgD, IgE, IgG e IgM. Se nombran mediante el prefijo "Ig" que significa inmunoglobulina y difieren en sus propiedades biológicas, localizaciones funcionales y capacidad para reconocer diferentes tipos de antígenos como se muestra en la tabla.

El isotipo cambia durante el desarrollo y la activación de los linfocitos B. Antes de la maduración de estos últimos, cuando aún no se han expuesto

⁸ 1. <http://es.wikipedia.org/wiki/Anticuerpo>

a su antígeno, se conocen como linfocitos B vírgenes y sólo expresan el isotipo IgM en su forma anclada a la superficie celular. Los linfocitos comienzan a expresar tanto IgM como IgD cuando alcanzan la madurez y en ese momento están listos para responder a su antígeno.

La activación de los linfocitos B sigue al encuentro y unión de éste con su antígeno, lo que estimula a la célula para que se divide y se diferencie en una célula productora de anticuerpos denominada plasmática. En esta forma activada, los linfocitos B comienzan a secretar anticuerpos en lugar de anclarlos a la membrana.

Algunas células hijas de los linfocitos B activados sufren un cambio isotípico, un mecanismo que provoca que la producción de anticuerpos en las formas IgM o IgD se trasmute a los otros tipos, IgE, IgA o IgG, que desempeñan distintos papeles en el sistema inmunitario.

ALOTIPOS

Son variaciones en las regiones constantes de las cadenas H y L, presentes solo en algunos individuos sanos de la especie.

Dependen genéticamente de diferentes alelos.

Se entiende por alotipo las pequeñas diferencias en la secuencia de aminoácidos en la región constante de las cadenas ligeras y pesadas de los anticuerpos producidos por los distintos individuos de una especie, que se heredan de forma mendeliana.

IDIOTIPOS

Son variaciones en las regiones variables de los anticuerpos, normalmente los distintos clones de linfocitos B producen idiotipos

distintos entre sí, no compartidos entre ellos, a los que se llama idiotipos privados.

También puede ocurrir que determinados determinantes idiotípicos sean comunes a dos o más clones, por lo que en este caso se habla de idiotipos públicos o de reacción cruzada. Debido a que distintos clones de linfocitos B de un mismo individuo pueden usar la misma región génica para construir sus porciones variables.

El idiotipo es el epítipo propio de una molécula perteneciente a un clon en particular. Este elemento forma parte o está muy próximo al lugar de reconocimiento del antígeno, y está situado en la porción variable Fab

En otras palabras, es el parátipo, o la región cercana de una inmunoglobulina puede ser reconocido como un epítipo por ciertos linfocitos. Según la Teoría de Jerne, La formación de anticuerpos antiidiotipo formaría una red (red de Jerne) cuya función sería la regulación de la síntesis de nuevas inmunoglobulinas.

2.3.5 INMUNOGLOBULINAS

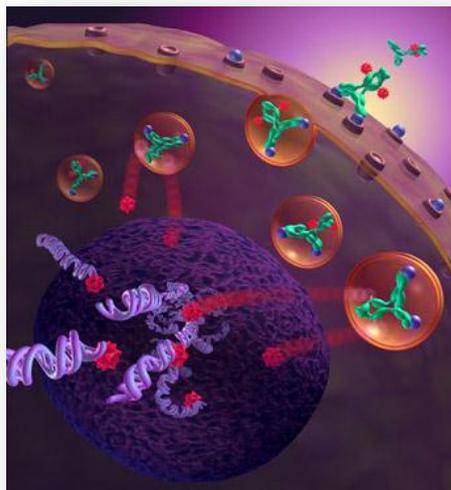


Figura # 18: Las Inmunoglobulinas.

Fuente: http://www.ferato.com/wiki/index.php/Imagen:20081013_mgb_Inmunoglobulina

Son proteínas plasmáticas, identificando así los anticuerpos como las proteínas del suero que se desplazan más lentamente. Esta fracción recibió el nombre de g-globulina, quedando así asociados temporalmente, los conceptos de anticuerpo y de g-globulina, como equivalentes.

Posteriormente se comprueba que no todos los anticuerpos migran electroforéticamente con las g-globulinas, sino que muchos de ellos lo hacen con la a y b globulinas. Esto se observó analizando los niveles de las distintas fracciones de globulinas antes y después de la inmunización con un antígeno.

Se concluye entonces, que no todos los anticuerpos son gammaglobulinas, por lo que Hebermans propone el término de inmunoglobulinas para designar a todas las sustancias con capacidad de anticuerpo.⁹

2.3.5.1 FUNCION DE INMUNOGLOBULINAS

La función esencial de las inmunoglobulinas es la de unirse al antígeno. De esta manera las inmunoglobulinas actúan como receptoras de señales antigénicas o bien pueden colaborar en la destrucción antigénica.

La primera función se presenta cuando las inmunoglobulinas se encuentran insertas en la membrana de los linfocitos B (inmunoglobulinas de membrana), y para la segunda requieren la colaboración del complemento, macrófagos, neutrófilos y células NK, que tienen la propiedad de unir las inmunoglobulinas por su extremo Fc.

⁹ 1. http://www.ferato.com/wiki/index.php/Imagen:20081013_mgb_Inmunoglobulina

2.3.5.2 ESTRUCTURA DE LAS INMUNOGLOBULINAS

Todas las inmunoglobulinas están formadas por cuatro cadenas polipeptídicas, dos de mayor tamaño, denominadas cadenas pesadas, y dos, de menor tamaño, llamadas cadenas ligeras.

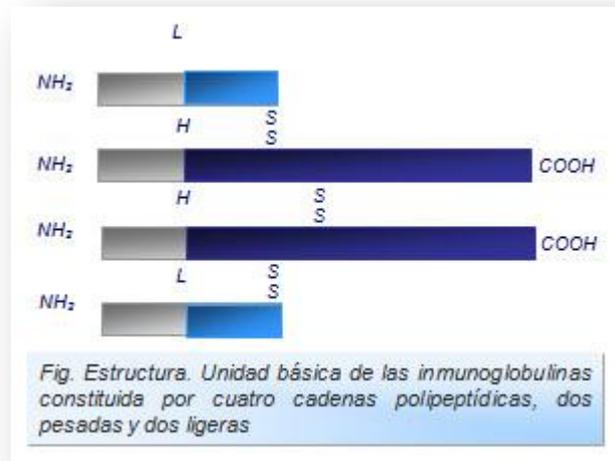


Figura # 19: Esquema de la estructura de las Inmunoglobulinas.

Fuente: http://www.educa2.madrid.org/c/document_library/get_file?p_l_id=194476&groupId=34663&folderId=201596&name=DLFE-5229.pdf

Las cadenas ligeras y pesadas se agrupan de tal manera que existe una proximidad espacial entre los cuatro extremos amínicos por una parte, y los extremos carboxílicos por otra. Las inmunoglobulinas pueden ser fraccionadas mediante la utilización de enzimas (papaína, pepsina, etc.), obteniéndose diferentes tipos de fragmentos. Esto permite no sólo conocer la estructura de estas moléculas sino también deducir la función de cada una de sus partes.

Al tratar con papaína la inmunoglobulina, se produce la ruptura específica de las cadenas pesadas, en el espacio comprendido entre el puente disulfuro que las une entre sí y los puentes que las unen a las cadenas ligeras.

Se obtienen tres fragmentos: uno denominado Fc, que define la actividad biológica, la clase y subclase de cadenas pesadas y otros dos fragmentos denominados cada uno de ellos Fab, que es por donde la molécula se une a los antígenos. Por otro lado, cuando se trata con tripsina se producen dos fragmentos (Fab) y restos de péptidos.

CADENAS LIGERAS DE INMUNOGLOBULINAS

Hay dos tipos de cadenas ligeras diferentes: tipo kappa (κ) y lambda (λ), las cuales poseen unos 200 aminoácidos.

En cada molécula de inmunoglobulina las dos cadenas ligeras son del mismo tipo, κ o bien λ . Estas cadenas se unen a las pesadas por un puente disulfuro intercatenario.

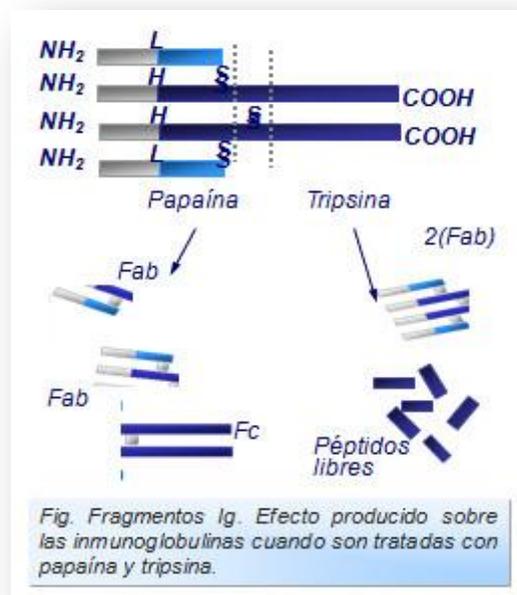


Figura # 20: Esquema de la cadena ligera de Inmunoglobulina.
Fuente: <http://www.monografias.com/trabajos11/vacsue/vacsue.shtml>

Una cadena ligera contiene dos dominios sucesivos: un dominio constante y un dominio variable. La longitud aproximada de la cadena ligera es de 211 a 217 aminoácidos.

Cada anticuerpo contiene dos cadenas ligeras que son siempre idénticas. Sólo un tipo de cadena ligera, κ o λ , está presente dentro del mismo anticuerpo en mamíferos.

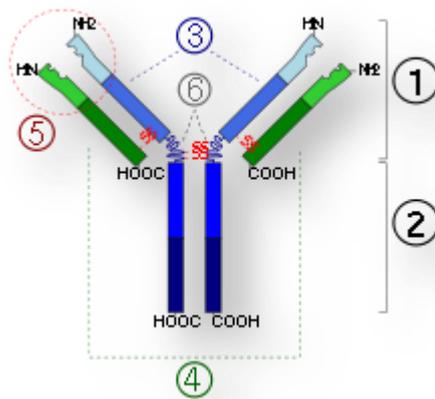
CADENAS PESADAS DE INMUNOGLOBULINAS

Hay cinco tipos de Ig en mamíferos que se nombran por letras griegas: α , δ , ϵ , γ y μ . El tipo de cadena pesada presente define la *clase* del anticuerpo. Estas cadenas se encuentran en los anticuerpos IgA, IgD, IgE, IgG, e IgM respectivamente.

Las distintas cadenas pesadas difieren en tamaño y composición: α y γ contienen aproximadamente 450 aminoácidos, mientras que μ y ϵ poseen aproximadamente 550 aminoácidos.

Las cadenas pesadas están unidas entre sí por puentes disulfuro intercatenarios, que pueden ser distintos en número dependiendo del tipo de inmunoglobulina.

Esta zona donde se encuentran los puentes intercatenarios, es muy flexible y constituye lo que se denomina zona bisagra, que es por donde se deforman estas moléculas cuando se unen al antígeno.



1. Región Fab
2. Región Fc
3. Cadena pesada con un dominio variable (V_H) seguido por un dominio constante (C_{H1}), una región bisagra, y dos más constantes, los dominios (C_{H2} y C_{H3}).
4. Cadena ligera con un dominio variable (V_L) y uno constante (C_L)
5. Lugar de unión al antígeno (paratopo)
6. Regiones bisagra.

Figura #21: Esquema de la cadena pesada.

Fuente: <http://www.frases.comule.com/267792/curso-de-inmunologia-general-5-las-inmunoglobulinas-y.html>

REGIONES FAB Y FC

Algunas partes del anticuerpo tienen funciones únicas. Los extremos de la "Y", por ejemplo, contienen el lugar que se une al antígeno y por tanto, reconoce elementos extraños específicos. Esta región del anticuerpo se llama Fragmento de unión al antígeno o región Fab. Está compuesta de un dominio constante y otro variable de cada una de las cadenas ligera y pesada del anticuerpo.

El paratopo está conformado por los dominios variables de la cadena pesada y ligera en el extremo amino terminal del monómero de anticuerpo. El papel que desempeña la base de la "Y" consiste en modular la actividad de la célula inmunitaria.

Esta región se llama Fragmento cristalizante o Fc y está compuesta por dos o tres dominios constantes de ambas cadenas pesadas, dependiendo de la clase del anticuerpo. Mediante la unión a proteínas específicas la región Fc se asegura que cada anticuerpo genera una respuesta inmune apropiada para un antígeno dado.

La región Fc también se une a varios receptores celulares como el receptor del Fc y otras moléculas del sistema inmunitario como las proteínas del complemento. Al efectuar esto, media en diferentes efectos fisiológicos incluyendo la opsonización, lisis celular y desgranulación de las células cebadas, basófilos y eosinófilos.¹⁰

2.3.5.3 CLASES DE INMUNOGLOBULINAS

Hoy se conocen cinco tipos de inmunoglobulinas: IgM, IgA, IgG, IgD e IgE, cada una de ellas con ciertas características distintas

2.3.5.3.1 INMUNOGLOBULINA IgG

Es la inmunoglobulina más abundante y representa más del 70 % de las Igs séricas totales. Las diferentes subclases se presentan en proporciones muy diferentes, así la IgG₁ es la subclase más frecuente (más del 60 %), seguida de la IgG₂ (aproximadamente un 18 %), mientras que IgG₃ e IgG₄ se encuentran en mucha menor proporción.

¹⁰<http://es.wikipedia.org/wiki/Anticuerpo>



Figura # 22: Esquema de la Inmunoglobulina IgG.
Fuente: <http://personarigida.mforos.com/1253963/7510795-efectos-secundarios-inmunoglobulinas/>

Esta Ig posee capacidad neutralizante, precipitante, de fijar complemento, de unirse a células NK y a macrófagos (opsonización) y es capaz de atravesar activamente las membranas biológicas, incluida la placenta materna.

La propiedad de atravesar activamente las membranas biológicas es de sumo interés, esta acción se realiza también en el feto al atravesar la placenta desde la madre, gracias a la existencia de receptores para la porción Fc en el sincitiotrofoblasto.

Como el feto sólo sintetiza pequeñas cantidades de inmunoglobulinas, adquiere de este modo la posibilidad de defensa, no solamente mientras se encuentra en el seno materno, sino incluso durante la lactancia, período en el cual todavía no ha desarrollado la capacidad total de síntesis de inmunoglobulinas.

Sin embargo, este paso de IgG desde la madre al feto no siempre es beneficioso para el feto. Cuando hay incompatibilidad del tipo Rh entre la madre y el feto, se puede desarrollar el síndrome de eritroblastosis fetal como consecuencia de la destrucción de glóbulos rojos fetales, pudiendo ocasionar nefastas consecuencias si no se trata a tiempo.

Esto no se presentaría si la IgG no pasase de la madre al feto. La IgG se sintetiza tardíamente tras un primer contacto con el antígeno, sin embargo, tras un segundo contacto la mayoría de las Igs formadas pertenecen a esta clase (Respuesta Secundaria).

2.3.5.3.2 INMUNOGLOBULINA IgA

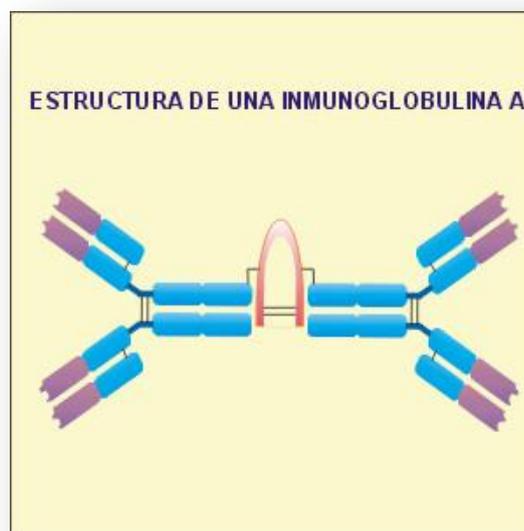


Figura #23: Esquema de la Inmunoglobulina IgA.

Fuente: <http://www.inspiracle.es/documentos/pdf/inmuno/inmunog.pdf>

Esta inmunoglobulina posee capacidad neutralizante y precipitante, mientras que su capacidad de fijar complemento y de opsonización son muy débiles, limitándose su efecto a neutrófilos y no a macrófagos.

La propiedad más importante de esta inmunoglobulina viene determinada por su capacidad de unirse por el extremo Fc a la pieza secretora, gracias a la cual puede ser secretada por las mucosas y glándulas exocrinas, ejerciendo su acción más importante en la superficie de mucosas y líquidos biológicos (sobre todo IgA₂), tales como el líquido cefalorraquídeo, secreción bronquial, lágrimas, saliva, etc.

Esto es importante porque así protegen precisamente los puntos más vulnerables del organismo, esto es, las puertas de entrada al mismo, como son ojos, boca, aparato digestivo, sistema respiratorio, vagina, etc. No olvidemos que.

Se deduce de ello que, sin duda, deben ser importantes los mecanismos de defensa local, entre los cuales la IgA tiene un papel esencial, esta inmunoglobulina se encuentra también en la leche materna.

Los niveles de todas las inmunoglobulinas, a excepción de la IgG en recién nacidos son muy bajos, siendo por tanto de gran significación el hecho de que la IgA se transfiera desde la madre al lactante a través de la secreción láctea.

De ahí que tengamos que insistir en que los lactantes se amamanten en el mayor grado posible directamente por las madres y no con leche de otros orígenes, a lo que actualmente existe excesiva tendencia. La IgA recibida de la madre ejerce un importante papel de defensa a nivel de todo el aparato digestivo.

En ello parece que influyen las especiales características de pH gástrico del lactante que es menos ácido que en el adulto y permite una especial resistencia de esta inmunoglobulina frente al mismo, por lo que no se destruye a su paso por el estómago.

2.3.5.3.3 INMUNOGLOBULINA IgE

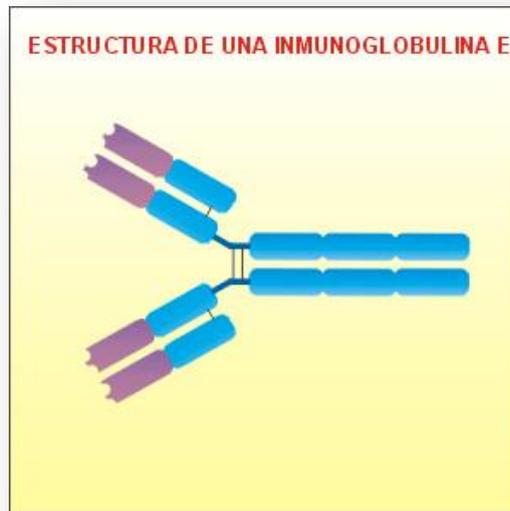


Figura # 24: Esquema de la Inmunoglobulina IgE.
Fuente: <http://www.ciencia-mx.com/temas/index.php?topic=1075.0>

En muchos individuos alérgicos esta inmunoglobulina se presenta en grandes cantidades. El estímulo para su síntesis puede proceder de una gran variedad de antígenos, a los que en este caso se conocen como alérgenos.

Estos alérgenos pueden penetrar en el organismo a través de la piel o de las mucosas respiratoria, ocular, del aparato digestivo, etc, así como por inyectables, como es el caso de la penicilina u otros medicamentos. La vida media de la IgE en sangre periférica es de 24-48 horas.

No tiene capacidad de atravesar la placenta, por lo tanto, las reacciones de hipersensibilidad inmediata no pueden transferirse de manera pasiva de la madre al feto. Sin embargo, puede existir una predisposición de tipo familiar a padecer enfermedades de naturaleza alérgica.

Esta predisposición parece estar relacionada con una tendencia a producir anticuerpos de tipo IgE en la respuesta secundaria frente a

antígenos, en lugar de IgG que sería la respuesta normal en individuos no alérgicos. La IgE se encuentra en forma libre en sangre, en donde se observa que los niveles cambian a lo largo de la edad.

También la IgE se encuentra en otros líquidos biológicos así como unidos a basófilos y células cebadas, gracias a la propiedad que tiene esta inmunoglobulina de unirse por su extremo Fc a receptores de superficie presentes en dichas células. Estas células se caracterizan por encontrarse en la piel y mucosas y por contener abundantes gránulos citoplasmáticos, ricos en sustancias vasoactivas que se liberan una vez se activan.

2.3.5.3.4 INMUNOGLOBULINA IgD



Figura # 25: Esquema de la Inmunoglobulina IgD

Fuente: http://www.ferato.com/wiki/index.php/Imagen:20081013_mgb_Inmunoglobulina

La concentración de esta inmunoglobulina en suero es muy baja. Hasta fechas muy recientes no se había demostrado que esta inmunoglobulina

poseía capacidad de unirse a antígenos, por lo que se dudaba de que actuase con función de anticuerpo.

Sin embargo, aunque actualmente se ha demostrado su acción de anticuerpo, no se conoce con precisión cuáles son sus funciones específicas, aunque se piensa que colabora de forma importante en la activación de linfocitos B al actuar como receptor en la superficie de los mismos.

2.3.5.3.5 INMUNOGLOBULINA IgM

Las inmunoglobulinas de tipo IgM son los que más rápidamente se forman en respuesta a un estímulo antigénico (Respuesta primaria).

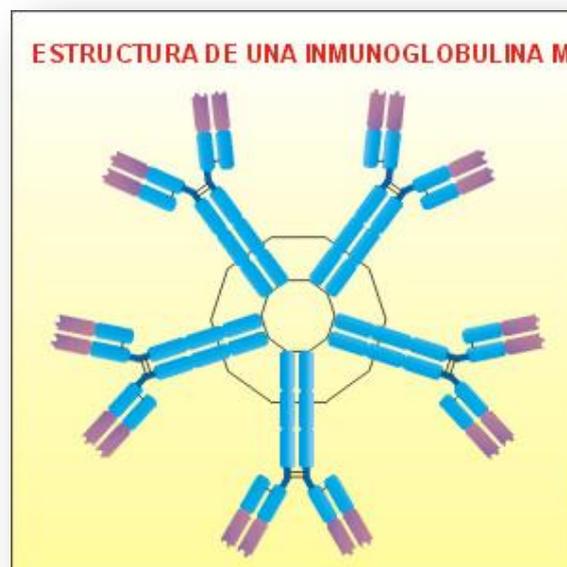


Figura # 26: Esquema de la Inmunoglobulina IgM.

Fuente: http://www.educa2.madrid.org/c/document_library/get_file?p_l_id=194476&groupId=34663&folderId=201596&name=DLFE-5229.pdf

Esta Ig se caracteriza también por poseer capacidad neutralizante, precipitante, aglutinante, fijar complemento, activar la respuesta inmune, sin embargo no atraviesa activamente las membranas biológicas.

Esta última propiedad hace que esta inmunoglobulina ejerza su acción, normalmente en los espacios intravasculares. Representa del 5 al 10 % de las Igs séricas totales y junto a la IgD es la más encontrada en la superficie de los linfocitos B como inmunoglobulina de membrana.

2.3.6 SISTEMA DE GRUPOS SANGUINEOS ABO

INTRODUCCION

El conocimiento científico de los grupos sanguíneos constituyó un gran avance hacia la dilucidación del mecanismo de algunas enfermedades, hereditarias y esclarecimiento de maternidades dudosas, pero por sobre las cosas fue una conquista terapéutica que posibilitó la transfusión de sangre entera sin riesgos.

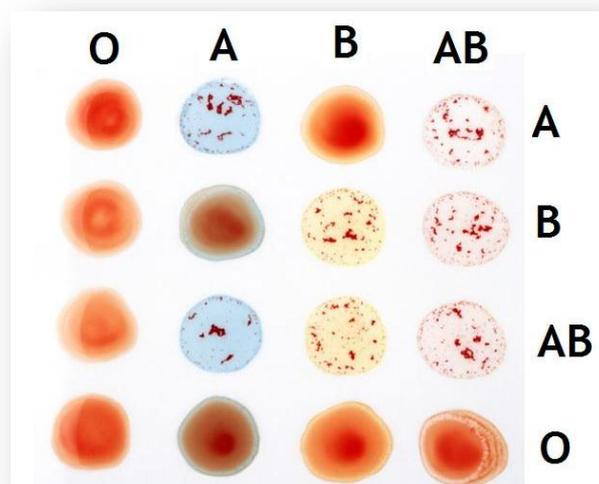


Figura # 27: Esquema de grupos sanguíneos.

Fuente: <http://www.labmillennium.com.pe/imagenes/FactorRH.jpg&imgrefurl>

La cantidad de sangre que un organismo puede perder sin que peligre la vida depende de la velocidad de la hemorragia; lentamente se resisten pérdidas de hasta el 30 - 40% de la volemia, pero en las hemorragias rápidas esta cifra se reduce al 20%. En los bancos de sangre se extrae aproximadamente un 10% de la volemia (500 ml en 30 minutos).

Las transfusiones de sangre entera están indicadas en las hipovolemias del shock traumático o quirúrgico, anemias crónicas, intoxicaciones, hipo coagulabilidad, desnutrición, enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN o eritroblastosis fetal) y otras afecciones.

Los grupos sanguíneos se transmiten hereditariamente. Para los diferentes sistemas, que incluyen genes (alelos) dominantes, codominantes y recesivos, se conocen más de 300 antígenos en la superficie del glóbulo rojo.

La interacción de un enorme número de locus y alelos implica una alta posibilidad de recombinación y expresión. Los anticuerpos también son numerosos.

NECESIDAD DE CONOCER A LOS GRUPOS SANGUÍNEOS

La principal aplicación es la transfusión sanguínea sin riesgos. Pese a que al transfundir se inyectan antígenos y anticuerpos, a los fines prácticos sólo interesan los antígenos ingresados con los glóbulos rojos, porque los anticuerpos sufren gran dilución y resultan inocuos, salvo raras excepciones.

Por lo tanto, el accidente más frecuente es que se aglutinen los glóbulos rojos de la sangre donada (que están siendo “esperados” por los anticuerpos de varios litros de plasma).

Raramente los anticuerpos del plasma donado aglutinen glóbulos rojos del receptor pues se diluyen y disminuye el título de anticuerpos (300ml de plasma con anticuerpos se diluyen en los 5 litros de sangre). El primer fenómeno a producirse es la aglutinación (iso hemoaglutinación, que ocurre entre 2 individuos de la misma especie).

REACCIÓN INMEDIATA:

Es el accidente menos común, en las transfusiones masivas de sangre del donante incompatible se producirá (brusca y severamente) rápida aglutinación y hemólisis de los glóbulos rojos donados circulantes (hemólisis intravascular), porque el título de anticuerpos es alto (IgM - anti ABO -anticuerpos fríos) que se comportan como hemolisinas activando el sistema lítico del complemento).

REACCIÓN TARDÍA:

Es el accidente más frecuente (generalmente hemólisis extravascular a cargo del Sistema Mononuclear Fagocítico, especialmente en el bazo). Las IgM ó IgG (anticuerpos calientes) unen (aglutinan) dos o más glóbulos rojos, que van obstruyendo pequeños vasos y provocando la migración de fagos, que los destruyen y liberan hemoglobina a la sangre.

2.3.6.1 SISTEMA ABO

INTRODUCCIÓN

El sistema ABO es el primer sistema de grupo sanguíneo humano descubierto (Landsteiner 1900). Los cuatro grupos sanguíneos de este sistema, AB, A, B y O, están determinados por la presencia o no de dos antígenos, denominados A y B en la membrana del eritrocito. Los antígenos del sistema ABO no se hallan circunscriptos a los eritrocitos, sino que se encuentran también en leucocitos, plaquetas y células de tejidos.

Así mismo se encuentra sustancias activas de grupos sanguíneos en la mayoría de los líquidos orgánicos, se dice que las personas cuyos líquidos orgánicos contienen sustancias de grupo sanguíneo son secretoras; aquellas cuyos líquidos orgánicos no contienen sustancias de grupo sanguíneo se denominan no secretoras.

Los eritrocitos transportan una rica variedad de antígenos individuales. Algunos de ellos, aunque altamente inmunógenos, son tan frecuentes (públicos) otros raros (privados) que rara vez están involucrados en reacciones adversas, aunque pueden ser responsables de la inmunización sobre un feto o contra células transfundidas. Las reacciones severas por transfusiones habitualmente se deben a incompatibilidad para los antígenos del sistema ABO.

Estos antígenos son oligosacáridos y están codificados genéticamente por genes situados en locus separado. Un gen H situado en otro locus, codifica la sustancia precursora sobre la que actúan los productos de los

genes A y B. Estos productos son enzimas que actúan como transferasas específicas. El producto del gen H es una enzima que produce la sustancia H. Las transferasas de los genes A y B son enzimas que convierten la sustancia H, en antígenos A y B.

En otras palabras, la sustancia H es la base sobre la cual actúan los genes A y B para formar los antígenos A y B. Por lo tanto las células del grupo O están dotadas generosamente de sustancia H, mientras que en las células A y B la mayor parte del sustrato se utiliza, de manera que queda relativamente poca sustancia H.

El gen O es un alelo silencioso (no altera la estructura de la sustancia H). De los individuos que no heredan el gen H, se dice que pertenecen al fenotipo Bombay (hh); estos individuos no producen sustancia H y, como consecuencia los genes A y B, si los tienen, no pueden expresarse.

2.3.6.2 ANTIGENOS DEL SISTEMA ABO

Sistema ABO				
Tipo	A	B	AB	O
Antígenos				
Anticuerpos			NINGUNO	

Figura #28: Esquema de los antígenos del sistema ABO.

Fuente: <http://www.google.com.ec/search?um=1&hl=es&noj=1&biw=1366&bih=536&tbnisch&sa=1&q=anticuerpos+del+sistema+abo>.

Los antígenos A y B se detectan en los eritrocitos fetales de solo 6 semanas, pero no alcanzan su máxima expresión hasta los 3 años de edad. Los antígenos ABO se encuentran también en las plaquetas y los linfocitos.

Los antígenos de los grupos sanguíneos ABO son moléculas de carbohidratos y es el producto de las enzimas glicosiltransferasas que están codificadas genéticamente. Los antígenos se forman cuando las transferasas añaden los azúcares sobre los oligosacáridos.

Aquellas personas con sangre de tipo A poseen antígenos A en su superficie y anticuerpos contra los antígenos B en el suero de la sangre.

Aquella persona con sangre de tipo B posee antígenos B en su superficie y anticuerpos contra los antígenos A en el suero de la sangre.

Personas con sangre de tipo O (cero) no expresan antígenos en su superficie, pero generan anticuerpos de ambos tipos A y B, Mientras que las personas de tipo AB expresan antígenos A y B, pero no generan anticuerpos de ningún tipo.¹¹

BIOQUÍMICA

Los antígenos A, B, H del plasma así como los de los hematíes, son glucoproteínas y glucolípidos. Otros autores consideran que las sustancias de los grupos sanguíneos son glucolípidos sobre los eritrocitos, pero aparecen como glucoproteínas en la forma secretoria que se encuentra en los líquidos orgánicos.

¹¹ Johannes Muller, Ignacio Boix. Tratado de Fisiología. Madrid. Editorial 2^{da} Edición. 1846, Pag: 162-165.

La especificidad antigénica está determinada por los glúcidos en los extremos no reductores del componente hidrato de carbono.

Los principales determinantes estructurales de la especificidad de los grupos H, A y B son los siguientes:

H:α- L - fucosa

A:α- N - acetilgalactosamina

B:α- D – galactosa

Los productos primarios del gen del locus de grupo sanguíneo son glucosil-transferasas, que dirigen el agregado de las unidades de glúcidos adecuadas a los sustratos aceptores preformados. Las enzimas son específicas, no sólo para el tipo de glúcido agregado, sino también para el sustrato y el tipo de unión.

2.3.6.3 GRUPOS Y SUBGRUPOS DEL SISTEMA ABO

- A = A₁ A₂ A₃ A_m
 - A₁ Dominante sobre A₂
 - A y B codominantes
 - A y B dominante sobre O
- B = B₃

2.3.6.4 SISTEMA Rh:

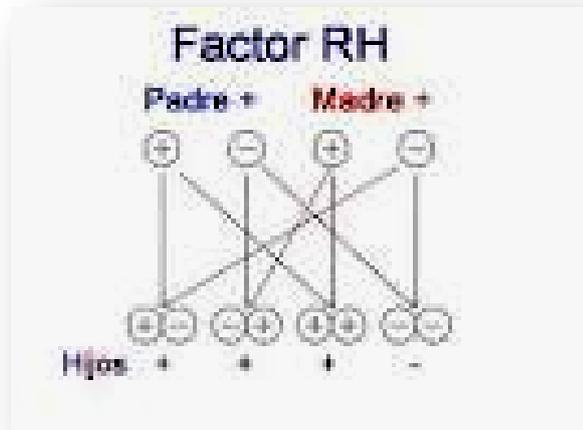


Figura #29: Esquema del factor Rh.

Fuente:http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/a/a0/Factor_rh.

HISTORIA

Representa otro sistema de antígenos de eritrocitos, que no está químicamente caracterizado. En 1940 Landsteiner y Wiener efectuaron comunicaciones en el sentido que si inyectaban eritrocitos de mono Rhesus a conejos o cobayos, estos animales producían un anticuerpo que, después de su absorción, aglutinaban los eritrocitos de un 85% aproximadamente, de personas norteamericanas de raza blanca.¹²

Denominaron a este anticuerpo anti - Rh (Rhesus) y el antígeno que se detectaba recibió el nombre de antígeno Rh. Poco antes de esto Levine y Stetson habían encontrado un anticuerpo en el suero de una mujer del grupo O, que antes no había sido transfundida, que presentó una reacción después de recibir una transfusión de sangre del Grupo O de su marido.

¹² 1. <http://www.labmillennium.com.pe/imagenes/FactorRH.jpg&imgrefurl>

Más tarde la paciente dio a luz un feto macerado, y estos autores sugirieron que había producido un anticuerpo para un antígeno eritrocítico fetal heredado del marido. Al parecer los anticuerpos humanos y animales eran idénticos, y por lo tanto se aceptó el nombre de anti - Rh para el anticuerpo humano.

Más tarde se vio que los dos anticuerpos no eran iguales y por tal motivo continuó denominándose anti – Rh al anticuerpo humano y se le dio el nombre de anti - LW al anticuerpo animal en honor a Landsteiner y Wiener, sus descubridores.

DEFINICION

El factor Rh es una clase de proteína que se encuentra en los glóbulos rojos de la sangre, cuando alguien tiene esa proteína se le considera “Rh Positivo”. Cuando no la tiene es “Rh Negativo”. El factor Rh es hereditario y se transmite en dos genes. El Factor Rh positivo es dominante, es decir si una persona tiene un gen positivo y otro negativo, su factor Rh será positivo.

Esta prueba es importante en el diagnóstico y estudio de la eritroblastosis fetal, en la que los glóbulos rojos del niño se encuentran sensibilizados con anticuerpo materno. Es útil también en el diagnóstico de la anemia hemolítica adquirida (anticuerpos sobre los glóbulos rojos del mismo paciente), así como la determinación de eritrocitos sensibilizados en sangre usados para transfusión.

Las dos clasificaciones más importantes para describir grupos sanguíneos en humanos son los antígenos y el factor Rh. Las transfusiones de sangre

entre grupos incompatibles pueden provocar una reacción inmunológica que puede desembocar en hemólisis, anemia, fallo renal, shock, o muerte.

2.3.6.5 ANTÍGENOS DEL SISTEMA RH

Son algunas veces responsables de reacción es por transfusión menos severas que el ABO. Son proteínas y rara vez se encuentran en el medio, de modo que los anticuerpos preformados son raros. Los genes que codifican los antígenos del sistema Rh están localizados en el brazo corto del cromosoma 1. El sistema Rhesus está constituido por unos 40 antígenos distintos, 5 de los cuales revisten importancia especial. Existen dos nomenclaturas para designar los distintos antígenos del sistema Rh.

La de Fisher - Race que se basa en la suposición que se heredan de cada progenitor tres genes situados en locus muy próximos o dicho de otra forma, tres sitios correspondientes a genes diferentes estrechamente ligados que intervienen en la producción de los antígenos Rhesus.

Los pares de alelos más comunes que pueden ocupar dichos locus, se designan con los signos Dd, Cc y Ee; cada gen codifica un antígeno específico dando origen a los antígenos D, C,c, E y e, a excepción del d (alelo silencioso), del que no se conoce producto.

El más inmunógeno es el antígeno D; por lo tanto, la presencia o ausencia del mismo determina si un individuo es Rh(+) o Rh(-). Dado que D es el antígeno Rhesus más potente, anti - D es el anticuerpo que se produce más comúnmente. Anti C es relativamente raro y es más común que se produzca con anti-D.

El término que se utiliza habitualmente de Rh positivo se refiere a células que reaccionan con anti-D.b)

Según Wiener, la terminología se basa en la herencia de un solo gen, compuesto por múltiples alelos de un locus único procedente de cada progenitor. Cada gen tiene una estructura en mosaico que comprende un número variable de antígenos sanguíneos.

2.3.6.6 TÉCNICA IN VITRO DE LA TIPIFICACIÓN DIRECTA E INVERSA DE ABO.

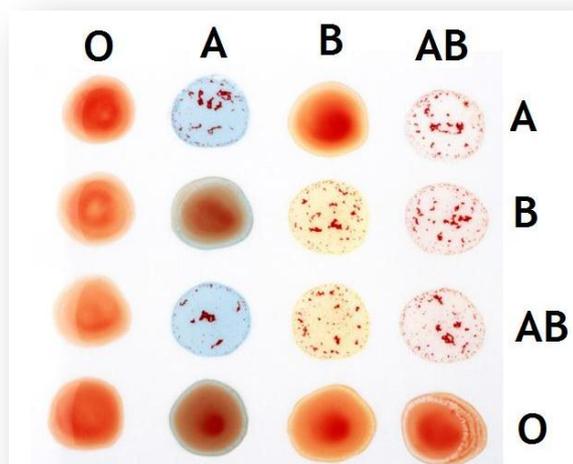


Figura # 30: Esquema de tipificación sanguínea
.Fuente: <http://i.dailymail.co.uk/i/pix/2008/06/21>.

2.3.6.6.1 MÉTODO DIRECTO ABO

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

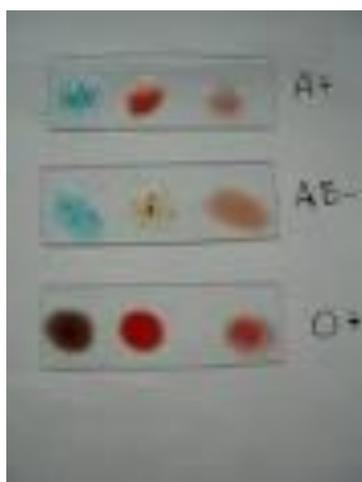


Figura # 31: Esquema del sistema ABO.
Fuente: <http://www.google.com.ec/imgres?imgurl>

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

TÉCNICA

1. Centrifugar los 3 tubos Vacutainer con muestra sanguínea anti coagulada con EDTA y el tubo Vacutainer con muestra sanguínea sin anticoagulante, a una velocidad de 2500 r.p.m. por 10 minutos, pues se utilizaran plasma y eritrocitos por separado.
2. Rotular los tubos de ensayo de la siguiente manera: en cada tubo rotular dos números en la muestra, uno correspondiente del 1 al 4, el otro numero corresponde al que ya traía la muestra, y con el tipo de antisuero: Anti-A, Anti-AB, Anti-B ó Anti-D.

3. En cuatro tubos limpios hacer una dilución de 2-5 % de eritrocitos con agua destilada, de cada muestra. La dilución tomara un color rojo tenue, similar a la sangría.
4. Colocar en cada tubo rotulado una gota de la dilución de eritrocitos preparada y una gota de antisuero, según corresponda.
5. Al concluir lo anterior, llevar los tubos a la centrifuga y centrifugar por solo 15 segundos a una velocidad de 1000 r.p.m. para observar mejor la reacción antígeno-anticuerpo (formación de un *botón*).
6. Por último leer los tubos, observando si hubo reacción o no, y correlacionando los datos obtenidos con el método inverso para determinar el grupo sanguíneo.

2.3.6.6.2 MÉTODO INVERSO ABO



Figura #32: Esquema de reactivos comerciales.

Fuente: http://raulcalasanz.files.wordpress.com/2009/10/grupos_sanguineos.

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 determinados anticuerpos, y que han reaccionado con los eritrocitos enfrentados.

TÉCNICA

1. Centrifugar los 3 tubos Vacutainer con muestra sanguínea anti coagulada con EDTA y el tubo Vacutainer con muestra sanguínea sin anticoagulante, a una velocidad de 2500 r.p.m. por 10 minutos, pues se utilizaran plasma y eritrocitos por separado.
2. Rotular los tubos de ensayo de la siguiente manera: en cada tubo rotular dos números en la muestra, uno correspondiente del 1 al 4, el otro numero corresponde al que ya traía la muestra, y con el tipo de eritrocitos con antígeno conocido: A₁, A₂, B y O.
El procedimiento se repite para las tres muestras restantes.
3. Colocar en cada tubo rotulado dos gotas ya sea de plasma o suero según corresponda y una gota de los eritrocitos con antígeno conocido.
4. Al concluir lo anterior, llevar los tubos a la centrifuga y centrifugar por solo 15 segundos a una velocidad de 1000 r.p.m. para observar mejor la reacción antígeno-anticuerpo (formación de un *botón*).
5. Por último leer los tubos, observando si hubo reacción o no, y correlacionando los datos obtenidos con el método inverso para determinar el grupo sanguíneo.

INTERPRETACION DE RESULTADOS DEL METODO INVERSO

- a) Si el suero aglutina a los glóbulos rojos A tiene Ac A, el suero que tiene Ac A corresponde a la sangre B, el suero problema, corresponde a una sangre del tipo B.

- b) Si el suero problema aglutina eritrocitos B tiene Ac B, el suero que tiene Ac B corresponde a la sangre A, el suero problema corresponde a una sangre del grupo A.

- c) Si el suero problema aglutina los eritrocitos A y B tiene Ac A y B, el suero que tiene Ac A y B corresponde a la sangre O, en consecuencia el suero problema corresponde a una sangre del grupo O.

- d) Si el suero problema no aglutina en los glóbulos rojos A y B no tiene Ac ni A ni B, por lo tanto el suero problema pertenece a una sangre del grupo AB.

2.3.6.6.3 DETERMINACIÓN DE RH

TECNICA:

Prepare una suspensión de glóbulos rojos al 3-5 % en solución salina.

Los glóbulos deben ser lavados previamente 5 veces con el objeto de eliminar las proteínas del plasma.

Rotular 3 tubos, para la previa identificación de Rh.

Ponga 1 gota de la suspensión lavada en cada tubo.

Añada una gota de anti suero D monoclonal.

Mezcle y centrifugue 15 seg.

Y observe si hay aglutinación.

Preparación del control negativo

Ponga una gota de eritrocitos lavados al 3-5 %

Añada una gota de reactivo control.

Centrifugue 15 seg. y observe si hay aglutinación

2.3.7 DETERMINACION EN TUBO DE GRUPOS SANGUINEOS

- Colocar una gota de anti-A en un tubo limpio y rotulado.
- Colocar una gota de anti-B en un segundo tubo limpio y rotulado.
- Colocar una gota de anti-AB en un tercer tubo limpio y rotulado.
- Colocar una gota de SSF en un cuarto tubo limpio y rotulado.
- Añadir a cada tubo una gota de GR al 5% en SSE.
- Mezclar suavemente el contenido de los tubos y centrifugarlos durante 15-30 segundos a 3500 rpm.
- Resuspender suavemente los sedimentos de los hematíes y examinar la aglutinación.
- Anotar los resultados de la prueba.
- Resultados: Si hay aglutinación es positivo, de no haber aglutinación es negativo (O).

INTERPRETACION DE RESULTADOS

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

POSIBLES CAUSAS DE FALSO POSITIVO

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

POSIBLES CAUSAS DE FALSO NEGATIVO

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

2.3.8 PREPARACION DE CELULAS CASERAS

2.3.8.1 LAVADO DE HEMATIES

Definición:

Componente obtenido a partir de una unidad de sangre total a la que se le ha retirado el plasma mediante lavados con solución isotónica.

El lavado de los hematíes no es el método más eficaz para eliminar los leucocitos, aunque si se consigue eliminar el plasma. El proceso de lavado elimina la mayor parte de las proteínas plasmáticas y microagregados.

Los pacientes IgA deficientes y con anticuerpos antiIgA pueden experimentar reacciones anafilácticas después de la transfusión de sangre o componentes sanguíneos que contenga IgA.

La transfusión de hematíes lavados reduce la incidencia de reacciones febriles, urticarias, y probablemente también reacciones anafilácticas. Lo ideal, sin embargo, en estos pacientes es utilizar sangre de donantes IgA deficientes.

TECNICA:

Nota.- se trabajara con células tipadas anteriormente como A1, B, O (frescas)

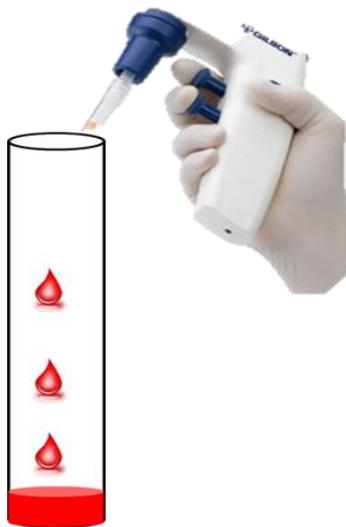


Figura #33: Lavado de hematíes 1

Fuente: Lic. Fernando Jaramillo: *Sangre y Componentes Seguros. Guía para la realización de pruebas inmunohematológicas.*¹³

1.- Cogemos 1 ml de sangre total y colocamos en un tubo limpio y rotulado (A)

¹³ JARAMILLO, Fernando: *Sangre y Componentes Seguros. Guía para la realización de pruebas inmunohematológicas.*

- 2.- Cogemos 1 ml de sangre total y colocamos en un tubo limpio y rotulado (B)
- 3.- Cogemos 1 ml de sangre total y colocamos en un tubo limpio y rotulado (O)
- 4.- Llenamos cada tubo con solución salina a un mismo nivel (no llenar completamente, porque esto permitirá que la sangre se riegue durante la centrifugación)
- 5.- El tiempo de centrifugación es de 2 minutos a 3000 rpm (serofuga)

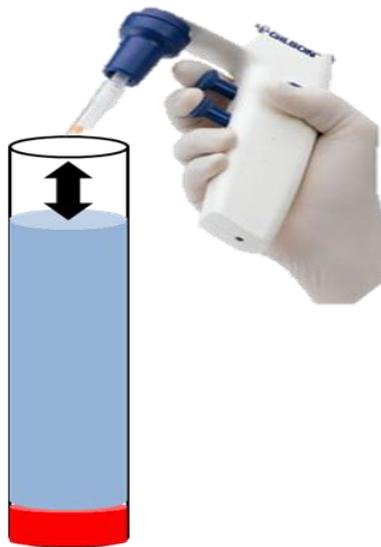


Figura #34: Lavado de hematíes 2

Fuente: Lic. Fernando Jaramillo: *Sangre y Componentes Seguros. Guía para la realización de pruebas inmunohematológicas.*

- 6.- Retirar el sobrenadante por aspirado, eliminando toda la solución salina precipitante.
- 7.- Repetir el proceso de lavado por 4 veces.

8.- Al final quedara un concentrado de hematíes libres de plaquetas, glóbulos blancos y plasma

Nota.- se evidencia que los lavados son apropiados cuando mejora el aspecto de la solución salina (cristalino).

2.3.8.2 SUSPECION DE LAS CELULAS LAVADAS

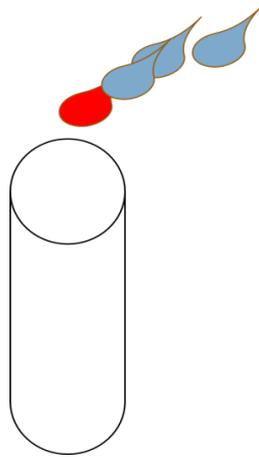


Figura #35: Suspensión de células lavadas

Fuente: Lic. Fernando Jaramillo: Sangre y Componentes Seguros. Guía para la realización de pruebas inmunohematológicas.

Nota- La suspensión es 1 en 20 (1 gota de células lavadas + 19 gotas de solución salina isotónica), esto genera un volumen de 1 ml.

Colocamos para la suspensión de 10 ml de cada célula lavada y suspendida (500 ul de hematíes equivalente a 0,5 ml) + (9500 ul de solución salina isotónica equivalente a 9,5 ml)



Figura #36: Reactivo ABO

Fuente: Lic. Fernando Jaramillo: *Sangre y Componentes Seguros. Guía para la realización de pruebas inmunohematológicas.*

Se requiere para la práctica de la investigación generar más volumen, por lo tanto trabajaremos con los cálculos siguientes:

Numero de ensayo	Cantidad de células lavadas (gotas)	Cantidad de solución salina isotónica (gotas)	Cantidad de células lavadas (ul)	Cantidad de solución salina isotónica (ul)	Volumen final
1	1	19	50	950	1ml
2	2	38	100	1900	2ml
3	3	57	150	2850	3ml
4	4	76	200	3800	4ml
5	5	95	250	4750	5ml
6	6	114	300	5700	6ml
7	7	133	350	6650	7ml
8	8	152	400	7600	8ml
9	9	171	450	8550	9ml
10	10	190	500	9500	10ml
11	11	209	550	10450	11ml
12	12	228	600	11400	12ml
13	13	247	650	12350	13ml
14	14	266	700	13300	14ml
15	15	285	750	14250	15ml
16	16	304	800	15200	16ml
17	17	323	850	16150	17ml
18	18	342	900	17100	18ml
19	19	361	950	18050	19ml
20	20	380	1000	19000	20ml
21	21	399	1050	19950	21ml
22	22	418	1100	20900	22ml

23	23	437	1150	21850	23ml
24	24	456	1200	22800	24ml
25	25	475	1250	23750	25ml
26	26	494	1300	24700	26ml
27	27	513	1350	25650	27ml
28	28	532	1400	26600	28ml
29	29	551	1450	27550	29ml
30	30	570	1500	28500	30ml
31	31	589	1550	29450	31ml
32	32	608	1600	30400	32ml
33	33	627	1650	31350	33ml
34	34	646	1700	32300	34ml
35	35	665	1750	33250	35ml
36	36	684	1800	34200	36ml
37	37	703	1850	35150	37ml
38	38	722	1900	36100	38ml
39	39	741	1950	37050	39ml
40	40	760	2000	38000	40ml
41	41	779	2050	38950	41ml
42	42	798	2100	39900	42ml
43	43	817	2150	40850	43ml
44	44	836	2200	41800	44ml
45	45	855	2250	42750	45ml
46	46	874	2300	43700	46ml
47	47	893	2350	44650	47ml
48	48	912	2400	45600	48ml
49	49	931	2450	46550	49ml
50	50	950	2500	47500	50ml

Para el ensayo trabajaremos con un volumen final de células preparadas de 10 ml, cuando este en relación con el anticoagulante CPDA1, este prolonga la vida de los hematíes a 35 días, en la bolsa recolectora.

Los 63 ml que se proporciona en la bolsa de recolección permite la recolección de 450 ml de sangre, buscaremos la estabilidad de los hematíes a iguales días una vez suspendidos en una relación de 1 en 20 a volumen final de 10 ml.

Compararemos la estabilidad de las células cuando se las conserve con EDTA, SAG Manitol, a temperaturas que oscilen entre 2 a 8 grados centígrados.

CANTIDAD DE CGR MEZCLADOS CON CPDA1 Y SEPARADOS POR ABSORCIÓN CON JERINGUILLA	CANTIDAD DE SAG-MANITOL	VOLUMEN TOTAL
1 ml	0.22 ml	1.22 ml
2 ml	0.44 ml	2.44 ml
3 ml	0.66 ml	3.66 ml
4 ml	0.88 ml	4.88 ml
5 ml	1.10 ml	6.10 ml
6 ml	1.32 ml	7.32 ml
7 ml	1.54 ml	8.54 ml
8 ml	1.76 ml	9.76 ml
9 ml	1.98 ml	9.98 ml
10 ml	2.20 ml	12.20 ml

CANTIDAD DE SANGRE TOTAL	CANTIDAD DE CPDA1	VOLUMEN TOTAL
1 ml	0,14 ml	1,14 ml
2 ml	0,28 ml	2,28 ml
3 ml	0.42 ml	3.42 ml
4 ml	0.56 ml	4,56 ml
5 ml	0.70 ml	5.70 ml
6 ml	0.84 ml	6.84 ml
7 ml	0.98 ml	7.98 ml
8 ml	1.12 ml	9.12 ml
9 ml	1.26 ml	10.26 ml
10 ml	1.40 ml	11.40 ml

2.3.8.3 TECNICA PARA LA IDENTIFICACION DE ANTICUERPOS DEL SISTEMA ABO (PRUEBA INVERSA)

REACTIVOS, SUMINISTROS Y EQUIPOS

- Hematíes A1, B y O preparados al 3- 5%
- Tubos de 12 x 75, Pipetas Pasteur,
- Lámpara con luz intensa
- Centrifuga.

PROCEDIMIENTO

1. Colocar una gota de hematíes reactivos del grupo A1 en un tubo limpio y rotulado.
2. Colocar una gota de hematíes reactivos del grupo B en un 2do. tubo limpio y rotulado.
3. Colocar una gota de hematíes del grupo O en un tercer tubo limpio y rotulado
4. Añadir a cada tubo dos gotas de suero problema.
5. Mezclar suavemente el contenido de los tubos y centrifugar 15 segundos a 20 con 3500 r.p.m..
6. Resuspender suavemente el botón celular y examinar buscando aglutinación.
7. Anotar los resultados de la prueba

REPORTE DE RESULTADOS

		Células A	Células-B	Células-O
	A	-	+	-
Grupo	B	+	-	-
	AB	-	-	-
	O	+	+	-

Figura #37: Células ABO

Fuente: Lic. Fernando Jaramillo: *Sangre y Componentes Seguros. Guía para la realización de pruebas inmunohematológicas.*

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

VALORACION DE LA INTENSIDAD DE REACCION

4+ =aglutinación completa de todas las células
3+ =aglutinación de la mayoría de las células
2+ =aglutinación a simple vista
1+ =positividad débil a simple vista; neta cuando se emplea una lupa o espejo cóncavo
Negativo = no se observa aglutinación
L = lisis de los glóbulos rojos

PRINCIPIO DE LA PRUEBA DIRECTA

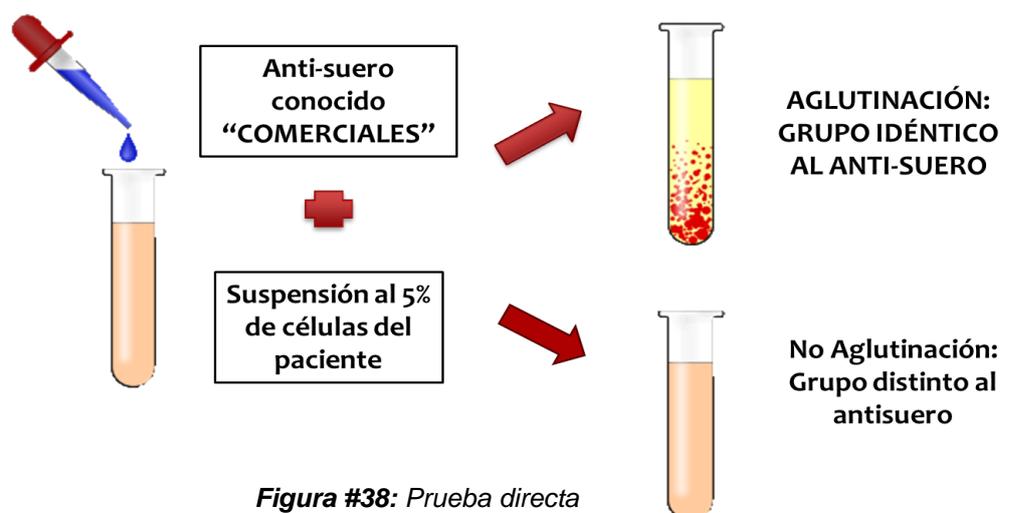


Figura #38: Prueba directa

Fuente: Lic. Fernando Jaramillo: Sangre y Componentes Seguros. Guía para la realización de pruebas inmunohematológicas.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA INVERSA

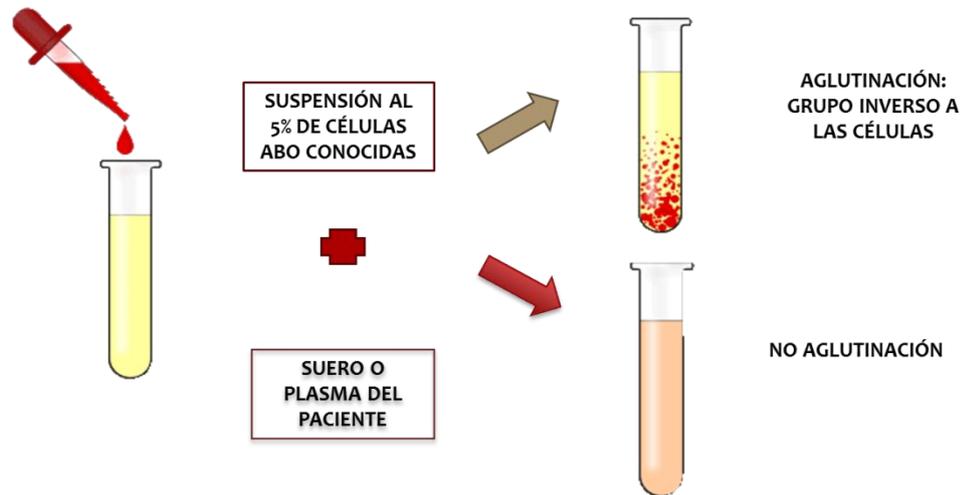


Figura #39: Prueba inversa

Fuente: Lic. Fernando Jaramillo: *Sangre y Componentes Seguros. Guía para la realización de pruebas inmunohematológicas.*

2.4 DEFINICION DE TERMINOS BASICOS

ABO: Sistema sanguíneo A, B, O

ACD: Acido-Citrato-Dextrosa

Ac: Anticuerpo

Ag: Antígeno

AND: Acido desoxinucleico

Aloantígeno: Antígeno procedente de un individuo de la misma especie pero genéticamente distinto que provoca al inyectarlo una respuesta inmune.

Autoantígeno: Antígeno procedente del mismo individuo.

Aloanticuerpos: Si reconocen a antígenos que no están presentes en los eritrocitos del individuo.

Autoanticuerpos: Si reaccionan con los antígenos eritrocitarios del propio individuo.

Antígeno: Es una molécula capaz de generar una respuesta del sistema inmune, mediante la activación de linfocitos.

Antigenicidad: Capacidad de combinarse de forma específica con antígenos específicos del sistema inmune.

ARN: Acido ribonucleico

Calidad De Una Muestra Biológica: Representatividad para informar del estado de la persona de la que se obtuvo.

Célula: Es la unidad fundamental de los organismos vivos, generalmente de tamaño microscópico, capaz de reproducción independiente y formada por un citoplasma y un núcleo rodeados por una membrana.

CNK: Célula Natural Killer

CPAs: Células presentadoras de Antígenos

CPDA: Citrato-Fosfato-dextrosa-Adenina

DPG: Di fosfo glicerato

EDTA: Etilen diamino tetra acético

EHRN: Enfermedad Hemolítica del Recien Nacido

Epítipo o determinante antigénico: Es el sitio concreto de un antígeno que se une específicamente al anticuerpo.

Espécimen: Una o más partes tomadas inicialmente de un sistema. En nuestro caso directamente del paciente.

Error de laboratorio: Fallo al completar una acción planificada como se deseaba o utilización de un plan incorrecto para alcanzar un objetivo;

defecto producido en cualquier parte del ciclo del laboratorio, desde que se solicitan las magnitudes hasta que se informan los resultados y se interpretan.

Exactitud: Concordancia entre el resultado de una medición y el valor verdadero.

Fc: Fragmento C

Hapteno: Sustancia reconocida por el sistema inmune, incapaz de inducir una respuesta inmune.

Inmunogeno: Sustancia reconocida por el sistema inmune mediante anticuerpos, el cual induce a una respuesta inmune.

Ig: Inmunoglobulina

Interferencia: Desviación clínicamente significativa en la medida de la concentración de un analito, debida al efecto de otro componente o propiedad de la muestra.

Muestra: Parte de un espécimen que utilizamos para obtener información de ese paciente. El espécimen es manipulado con el fin específico de aumentar la estabilidad de sus constituyentes o facilitar su manejo.

Pragmatismo: Es la actitud predominante pragmática, que busca las consecuencias prácticas del pensamiento y pone el criterio de verdad en su eficacia y valor para la vida.

SAG-M: Salina-Adenina-Glucosa-Manitol

Xenoantígeno: Antígeno procedente de una especie diferente.

2.5 HIPÓTESIS Y VARIABLES

2.4.1 HIPÓTESIS

La utilización del SAG manitol o CPDA pueden prolongar la vida útil de las células ABO no comerciales, para identificar anticuerpos al enfrentarlos con el suero o plasma.

2.4.2 VARIABLES

Variable Independiente

Utilización del Sag manitol y CPDA en células del grupo ABO

Variable Dependiente

Prolongación de la vigencia y efectividad de reacción de células caseras

2.5 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

VARIABLE INDEPENDIENTE	CONCEPTO	CATEGORIA	INDICADORES	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS
Utilización del SAG manitol y CPDA en células del grupo ABO	Anticoagulantes que permiten conservar la morfología eritrocitaria.	CPDA SAG-Manitol	<ul style="list-style-type: none"> • Concentración de la suspensión eritrocitaria • Dosificación del anticoagulante. 	Guía De Observación
VARIABLE DEPENDIENTE	CONCEPTO	CATEGORIA	INDICADORES	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS
Prolongación de la vigencia y efectividad de reacción de células caseras	Hematíes preparados en laboratorio para identificar anticuerpos del sistema ABO	Hematíes del grupo sanguíneo A. Hematíes del grupo sanguíneo B. Hematíes del grupo sanguíneo O.	<ul style="list-style-type: none"> • Lisis eritrocitaria • Hemaglutinación positiva, negativa • Registro de Temperatura 	Guía de observación

CAPITULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1 MÉTODO

En la presente investigación utilizaremos el método Deductivo - Inductivo, Analítico, Explicativo y Correlacional.

Método Deductivo - Inductivo: Utilizaremos este método ya que nos ayudará al estudio de cada anticoagulante empleado en los grupos sanguíneos A-B-O, para obtener resultados que nos llevaran a sacar conclusiones generales de nuestro tema de investigación.

La aplicación del método Analítico nos permitirá analizar a cada uno de los anticoagulantes empleados en los grupos sanguíneos ABO, su comportamiento en la reacción de hemaglutinación y su máximo tiempo de vigencia.

Con la aplicación del método explicativo manifestaremos cual es el anticoagulante más apropiado para mantener las características de vigencia y calidad de reacción, en base a su composición e interacción con la estructura eritrocitaria.

El método correlacional nos permitirá relacionar los aspectos cuantitativos y cualitativos de las variables expuestas en nuestro tema de investigación.

3.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN

Investigación de campo.- debido a que el proceso de la investigación se lo hace en un lugar específico, en este caso en el laboratorio de Docencia de la UNACH.

Investigación Descriptiva: describe los pasos a seguir en la práctica de la preparación de los hematíes y búsqueda de la dosificación adecuada del anticoagulante que preservara a las células.

Investigación Explicativa: en base a la recopilación de la información en textos, libros y folletos, se llega a establecer causas o consecuencias que podrían alterar la composición de los hematíes cuando se empleen diversos anticoagulantes, mismo que podrían afectar o beneficiar los resultados de ensayos realizados.

3.3 POBLACIÓN Y MUESTRA

3.3.1 POBLACIÓN

La población de la presente investigación, está constituida por 150 ensayos, esta población es pequeña razón por la cual no se extrae muestra.

Para ilustrar de mejor manera el universo presentamos el siguiente cuadro poblacional:

3.3.2 MUESTRA.

Por tratarse de una población pequeña no se extrae muestra por lo tanto se trabaja con toda la población.

3.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.

Las técnicas e instrumentos que utilizaremos para la recolección de información, datos más pertinentes serán:

3.4.1 TÉCNICAS

Observación

Análisis Documental

Recopilación bibliográfica

3.4.2 INSTRUMENTOS

Guía de Observación

3.5 TÉCNICAS PARA EL ANÁLISIS E INTERPRETACION DE RESULTADOS.

Registro de Resultados.

Tabulación de Datos

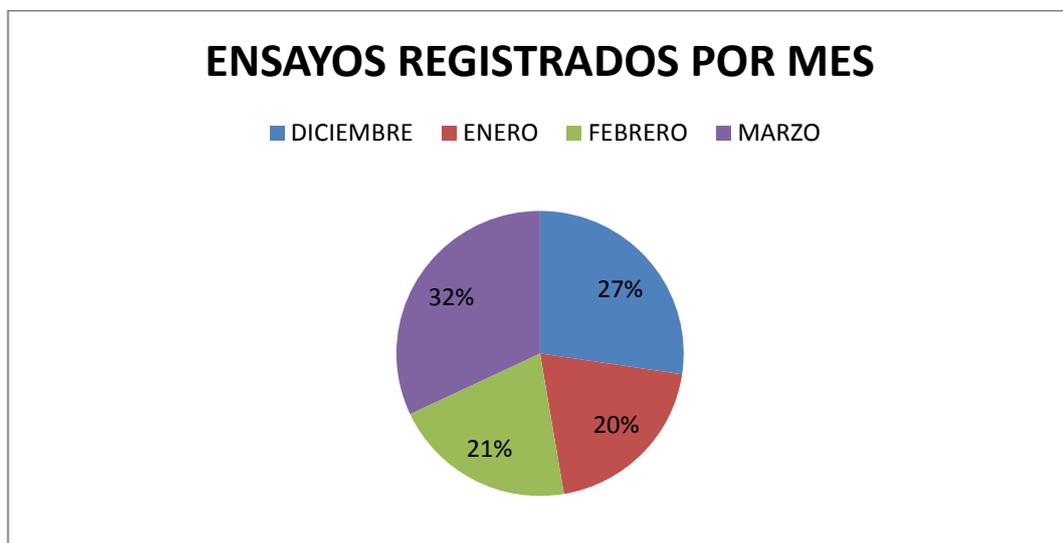
Análisis e interpretación de datos.

TABLA N°1 ENSAYOS REGISTRADOS POR MES

MES	NUMERO DE ENSAYOS
DICIEMBRE	41
ENERO	30
FEBRERO	31
MARZO	48
TOTAL	150

*Fuente: Lab. de Inmunohematología del S.M.T del H.P.G.D de Riobamba
Diseño: Candida y Gladys*

GRAFICO DE LA TABLA N°1



Grafico#1: Esquema de ensayos registrados por mes.

*Fuente: Lab. de Inmunohematología del S.M.T del H.P.G.D de Riobamba
Diseño: Candida y Gladys*

INTERPRETACION: Los ensayos realizados durante el periodo de investigación son 150, se registran durante el mes de diciembre 41 ensayos relacionados con el 27% de la totalidad de ensayos, en enero 30 ensayos relacionados con el 20%, en febrero 31 ensayos relacionados con el 21% y en marzo con 48 ensayos relacionados con el 32%, es este mes el de mayor registro de ensayos.

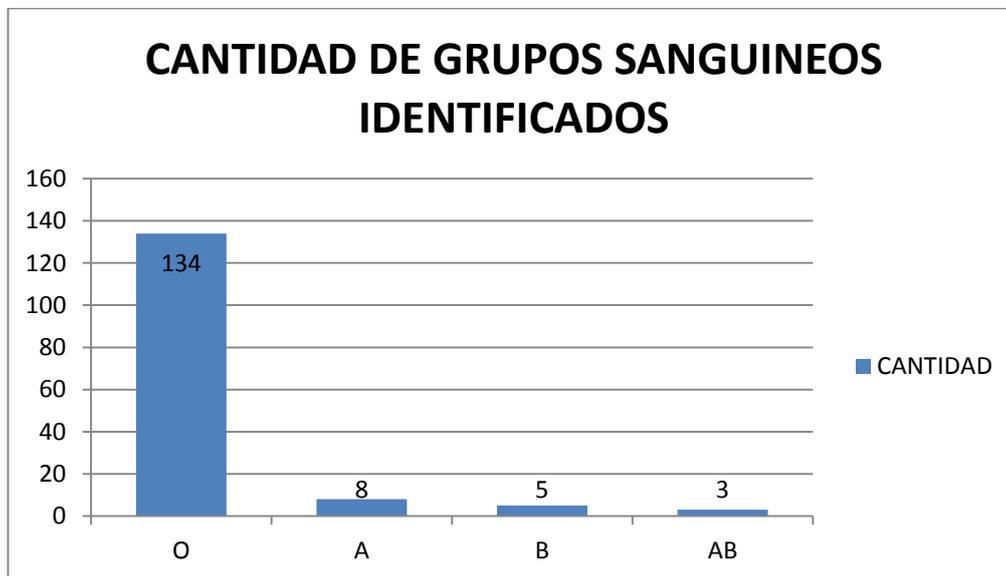
TABLA N°2 CANTIDAD DE GRUPO SANGUÍNEOS IDENTIFICADOS

GRUPO	CANTIDAD
O	134
A	8
B	5
AB	3

Fuente: Lab. de Inmunohematología del S.M.T del H.P.G.D de Riobamba

Diseño: Candida y Gladys

GRAFICO N°1 DE LA TABLA N°2



Grafico#2: Esquema de la cantidad de grupos sanguíneos.

Fuente: Lab. de Inmunohematología del S.M.T del H.P.G.D de Riobamba

Diseño: Candida y Gladys

INTERPRETACION: Son 150 ensayos determinados, los de grupo sanguíneo O son 134 determinaciones, grupo A 8 determinaciones, grupo B 5 y grupo AB 3. El grupo sanguíneo de mayor frecuencia es el O este se relaciona en un 89% de porcentaje a diferencia de los otros grupos sanguíneo.

GRAFICO N°2 DE LA TABLA N°2

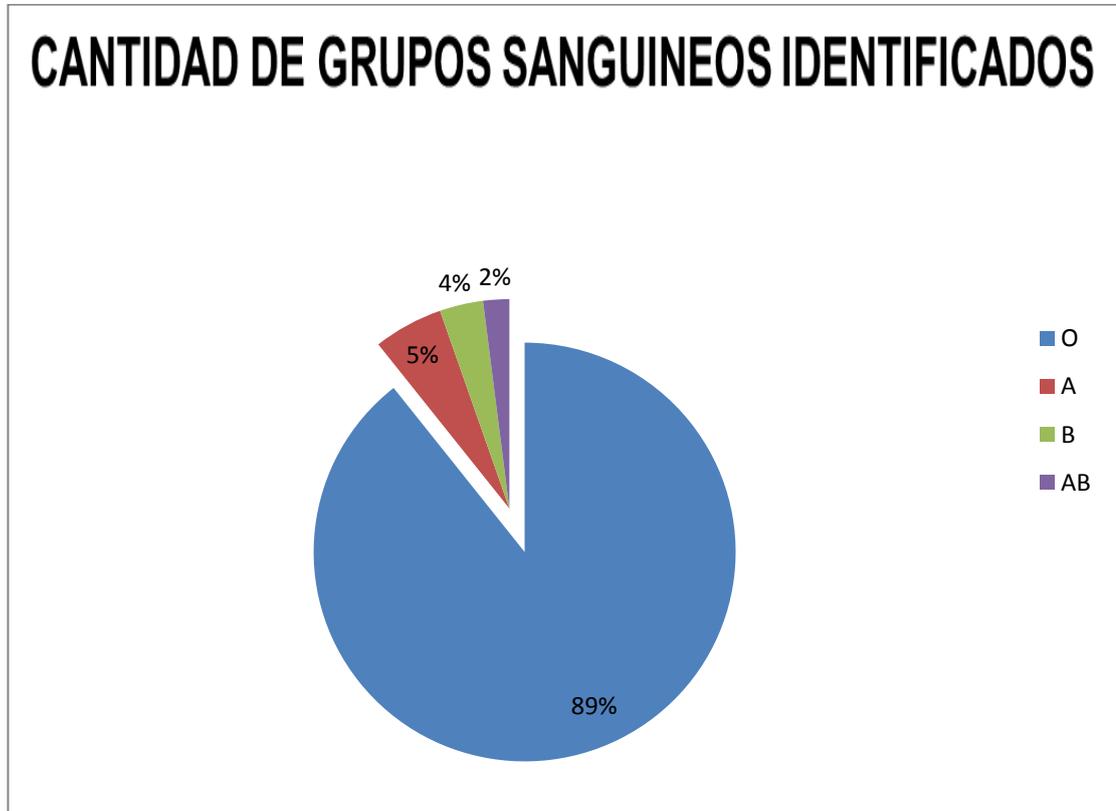


Grafico3: Esquema del porcentaje de grupos sanguíneos.
Fuente: Lab. de Inmunohematología del S.M.T del H.P.G.D de Riobamba
Diseño: Candida y Gladys

TABLA N°3 REGISTRO DE TEMPERATURA DE LAS REFRIGERADORAS QUE CONSERVAN A LAS CELULAS CON SAG MANITOL Y CPDA

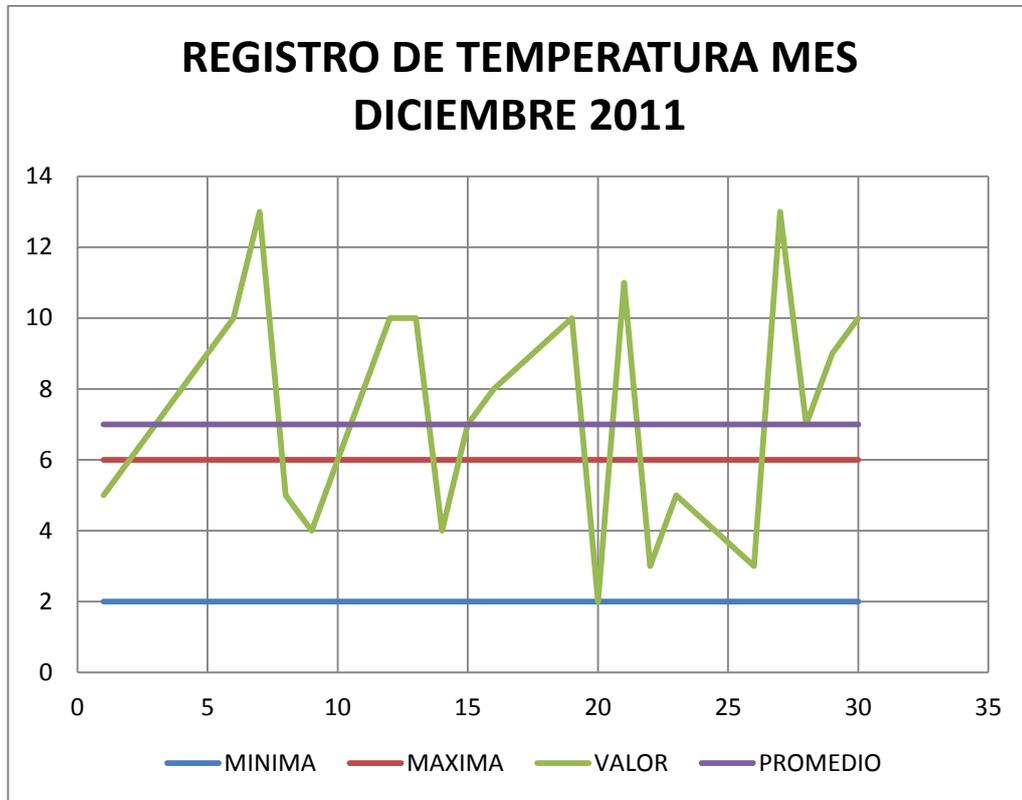
MES DE DICIEMBRE DEL 2011

DIA	MINIMA	MAXIMA	VALOR	PROMEDIO
1	2	6	5	7
2	2	6	6	7
5	2	6	9	7
6	2	6	10	7
7	2	6	13	7
8	2	6	5	7
9	2	6	4	7
12	2	6	10	7
13	2	6	10	7
14	2	6	4	7
15	2	6	7	7
16	2	6	8	7
19	2	6	10	7
20	2	6	2	7
21	2	6	11	7
22	2	6	3	7
23	2	6	5	7
26	2	6	3	7
27	2	6	13	7
28	2	6	7	7
29	2	6	9	7
30	2	6	10	7

Fuente: Lab. de Inmunohematología del S.M.T del H.P.G.D de Riobamba

Diseño: Candida y Gladys

GRAFICO DE LA TABLA N°3



Gráfico#4: Esquema de temperatura de Diciembre 2011.
Fuente: Lab. de Inmunohematología del S.M.T del H.P.G.D de Riobamba
Diseño: Candida y Gladys

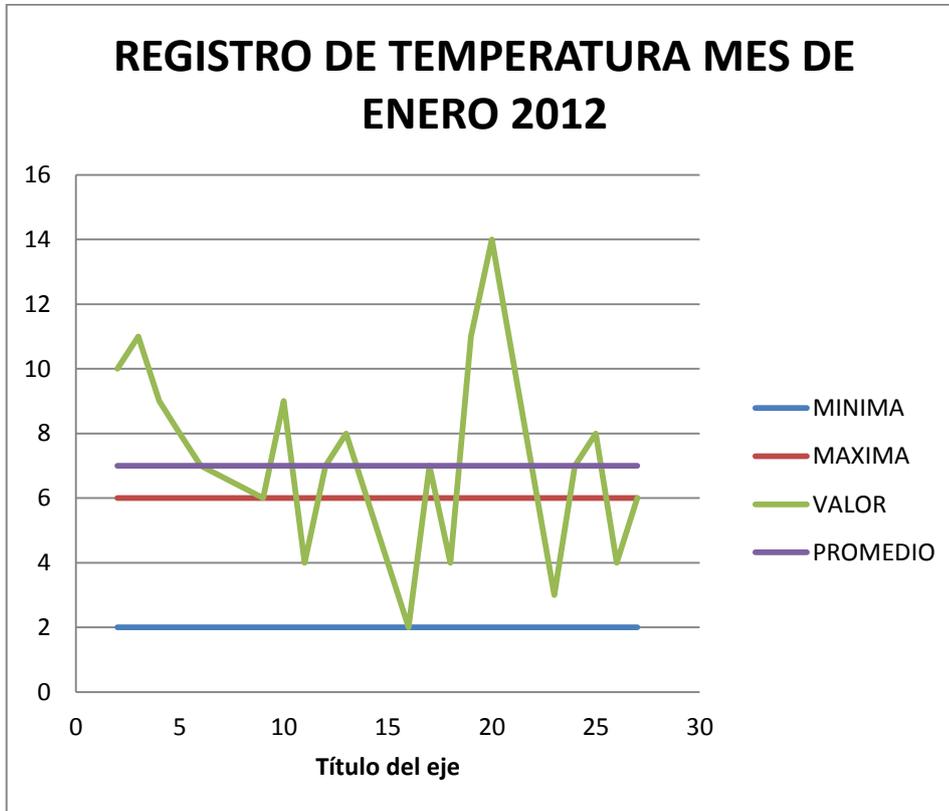
INTERPRETACION: Se registran durante el mes de Diciembre del 2011 la temperatura mínima de 2°C, a diferencia de la máxima a una temperatura de 6°C lo cual se obtiene un valor promedio de 7°C.

TABLA N°4 MES DE ENERO 2012

DIA	MINIMA	MAXIMA	VALOR	PROMEDIO
2	2	6	10	7
3	2	6	11	7
4	2	6	9	7
5	2	6	8	7
6	2	6	7	7
9	2	6	6	7
10	2	6	9	7
11	2	6	4	7
12	2	6	7	7
13	2	6	8	7
16	2	6	2	7
17	2	6	7	7
18	2	6	4	7
19	2	6	11	7
20	2	6	14	7
23	2	6	3	7
24	2	6	7	7
25	2	6	8	7
26	2	6	4	7
27	2	6	6	7

Fuente: Lab. de Inmunohematología del S.M.T del H.P.G.D de Riobamba
Diseño: Candida y Gladys

GRAFICO DE LA TABLA N°4



Grafico#5: Esquema de temperatura de Enero 2012.

Fuente: Lab. de Inmunoematología del S.M.T del H.P.G.D de Riobamba

Diseño: Candida y Gladys

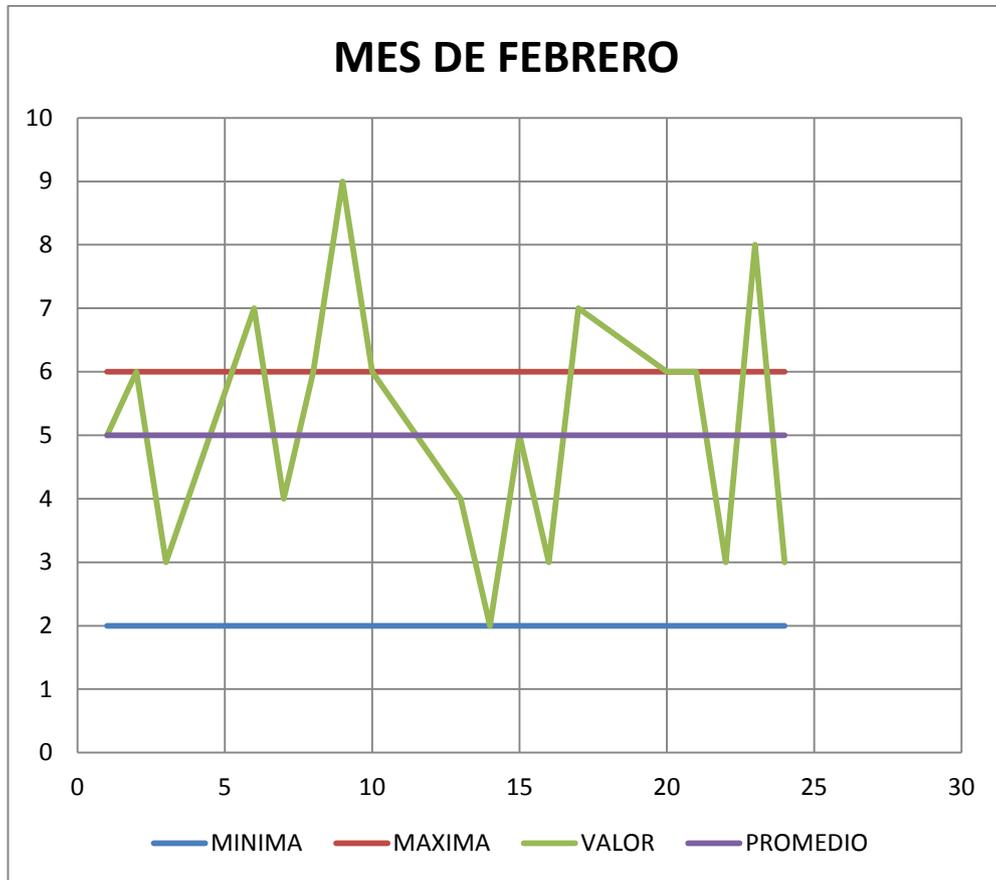
INTERPRETACION.- Se determina durante el mes de Enero del 2012, que a existido una disminución notoria de temperatura de los días 16 y 23 de enero, a diferencia de los días 2, 3, 19 y 20 existieron una elevación del grado de temperatura del promedio normal 7.

Tabla N°5 MES DE FEBRERO

DIA	MINIMA	MAXIMA	VALOR	PROMEDIO
1	2	6	5	5
2	2	6	6	5
3	2	6	3	5
6	2	6	7	5
7	2	6	4	5
8	2	6	6	5
9	2	6	9	5
10	2	6	6	5
13	2	6	4	5
14	2	6	2	5
15	2	6	5	5
16	2	6	3	5
17	2	6	7	5
20	2	6	6	5
21	2	6	6	5
22	2	6	3	5
23	2	6	8	5
24	2	6	3	5

Fuente: Lab. de Inmunohematología del S.M.T del H.P.G.D de Riobamba
Diseño: Candida y Gladys

GRAFICO DE LA TABLA N°5



Grafico#6: Esquema de temperatura de Febrero 2012.

Fuente: Lab. de Inmunohematología del S.M.T del H.P.G.D de Riobamba

Diseño: Candida y Gladys

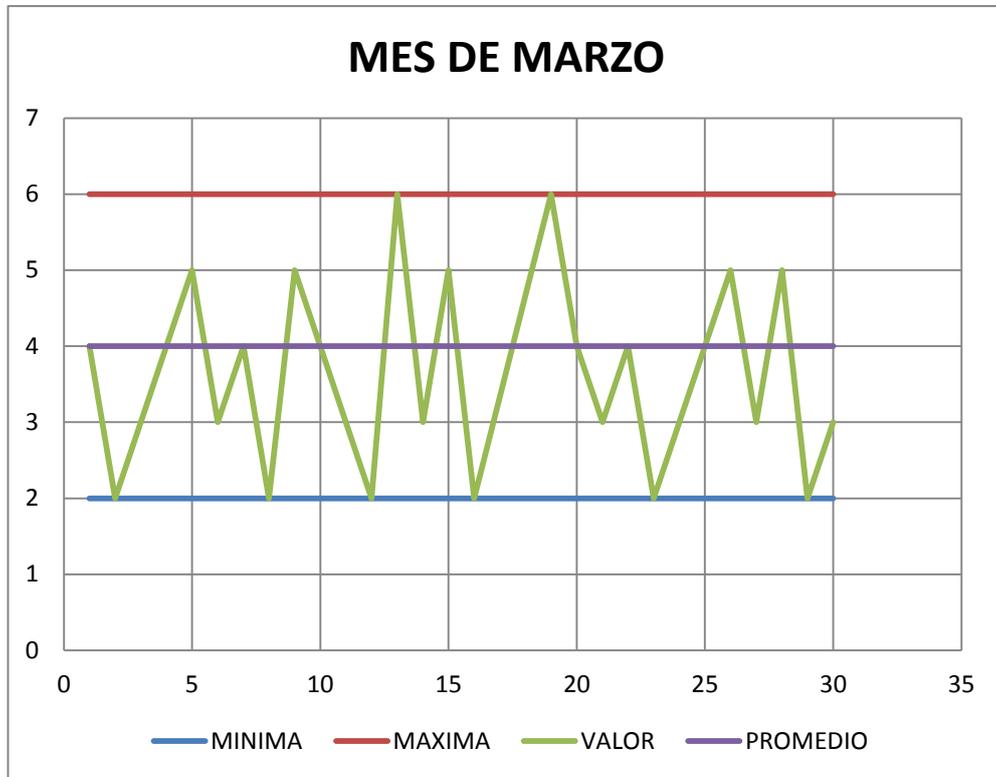
INTERPRETACION.- Se determina durante el mes de Febrero del 2012, que a existido una disminución notoria de temperatura de los días 3, 14, 16, 22 y 24 de Febrero, a diferencia de los días 9 y 23 existieron una elevación del grado de temperatura del promedio normal 5.

TABLA N°6 MES DE MARZO

DIA	MINIMA	MAXIMA	VALOR	PROMEDIO
1	2	6	4	4
2	2	6	2	4
5	2	6	5	4
6	2	6	3	4
7	2	6	4	4
8	2	6	2	4
9	2	6	5	4
12	2	6	2	4
13	2	6	6	4
14	2	6	3	4
15	2	6	5	4
16	2	6	2	4
19	2	6	6	4
20	2	6	4	4
21	2	6	3	4
22	2	6	4	4
23	2	6	2	4
26	2	6	5	4
27	2	6	3	4
28	2	6	5	4
29	2	6	2	4
30	2	6	3	4

Fuente: Lab. de Inmunohematología
del S.M.T del H.P.G.D de Riobamba
Diseño: Candida y Gladys

GRAFICO DE LA TABLA N°6



Grafico#7: Esquema de temperatura de Marzo 2012.

Fuente: Lab. de Inmunohematología del S.M.T del H.P.G.D de Riobamba

Diseño: Candida y Gladys

INTERPRETACION.- Se determina durante el mes de Marzo del 2012, que a existido una disminución notoria de temperaturas de los días 2, 6, 8, 12, 14, 16, 21, 23, 27, 29 y 30 de Marzo, a diferencia de los días 5, 9, 13, 15, 19, 26 y 28 existieron una elevación del grado de temperatura del promedio normal 4.

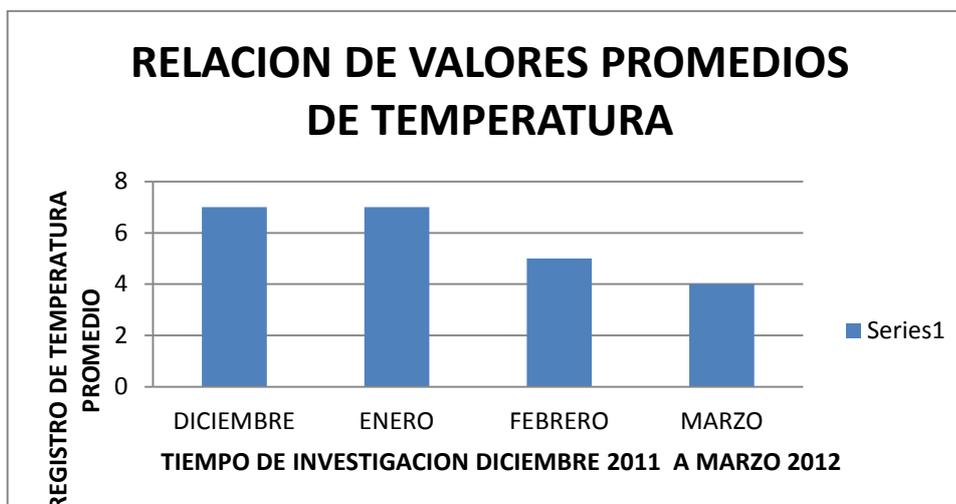
TABLA N°7 RELACION DE LOS VALORES PROMEDIOS DE TEMPERATURA

MES	VALOR
DICIEMBRE	7
ENERO	7
FEBRERO	5
MARZO	4

Fuente: Lab. de Inmunoematología del S.M.T del H.P.G.D de Riobamba

Diseño: Candida y Gladys

GRAFICO DE LA TABLA N°7



Grafico#8: Esquema de temperatura promedio de Diciembre a Marzo.

Fuente: Lab. de Inmunoematología del S.M.T del H.P.G.D de Riobamba

Diseño: Candida y Gladys

INTERPRETACION: Los hematíes con los conservantes deben ser controlados a temperaturas de 2 mínimo y 6 grados centígrados como máximo, en el mes de diciembre se registra un valor promedio de conservación de 7 grados centígrados al igual que en el mes de enero, esta temperatura no permite una conservación prolongada de hematíes. En febrero el promedio de temperatura es de 5 grados centígrados, mejora los días en que se prolonga la conservación de los hematíes, en el mes de marzo se mejora el promedio de conservación a 4 grados centígrados, se logra esta mejoría por controlar el grado de enfriamiento, y las veces en que las refrigeradoras son abiertas y el tiempo en que permanece abierta.

TABLA N°8 CANTIDAD DE HEMATIES Y ANTICOAGULANTE

CANTIDAD DE SANGRE TOTAL	CANTIDAD DE CPD	VOLUMEN TOTAL
1 ml	0,14 ml	1,14 ml
2 ml	0,28 ml	2,28 ml
3 ml	0.42 ml	3.42 ml
4 ml	0.56 ml	4,56 ml
5 ml	0.70 ml	5.70 ml
6 ml	0.84 ml	6.84 ml
7 ml	0.98 ml	7.98 ml
8 ml	1.12 ml	9.12 ml
9 ml	1.26 ml	10.26 ml
10 ml	1.40 ml	11.40 ml

Fuente: Lab. de Inmunohematología del S.M.T del H.P.G.D de Riobamba

Diseño: Candida y Gladys

TABLA N°9 CANTIDAD DE HEMATIES Y ANTICOAGULANTE

CANTIDAD DE SANGRE TOTAL	SE ADICIONA SAG MANITOL	VOLUMEN FINAL
1 ml	0.22 ml	1.22 ml
2 ml	0.44 ml	2.44 ml
3 ml	0.66 ml	3.66 ml
4 ml	0.88 ml	4. 88 ml
5 ml	1.10 ml	6.10 ml
6 ml	1.32 ml	7.32 ml
7 ml	1.54 ml	8.54 ml
8 ml	1.76 ml	9.76 ml
9 ml	1.98 ml	9.98 ml
10 ml	2.20 ml	12.20 ml

Fuente: Lab. de Inmunohematología del S.M.T del H.P.G.D de Riobamba

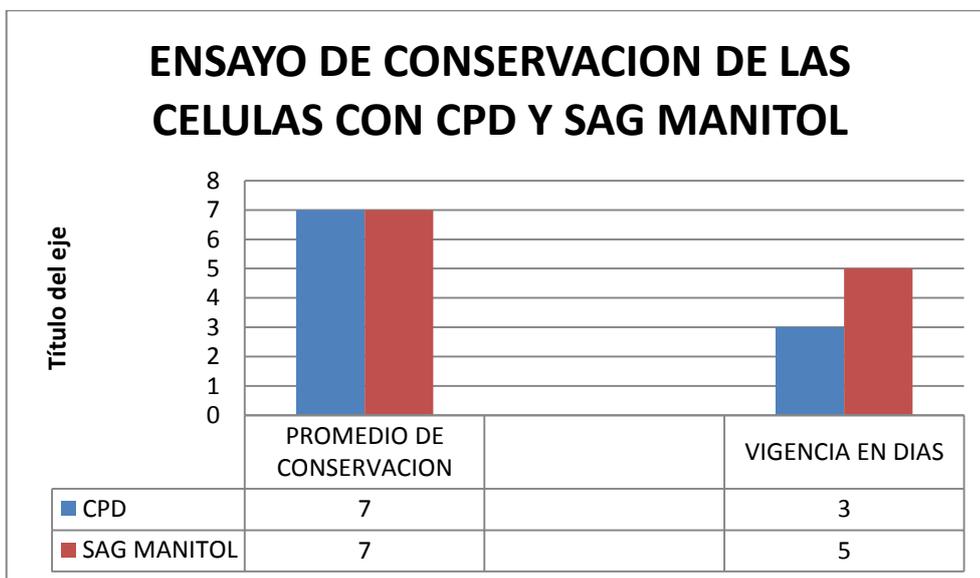
Diseño: Candida y Gladys

TABLA N°10 ENSAYOS DE CONSERVACION DE CELULAS

CONSERVANTE	PROMEDIO DE CONSERVACION	VIGENCIA EN DIAS
CPD	7	3
SAG MANITOL	7	5

*Fuente: Lab. de Inmunohematología del S.M.T del H.P.G.D de Riobamba
Diseño: Candida y Gladys*

GRAFICO DE LA TABLA N°10



Grafico#9: Esquema de ensayos de conservación de células con CPD y SAG-manitol.
*Fuente: Lab. de Inmunohematología del S.M.T del H.P.G.D de Riobamba
Diseño: Candida y Gladys*

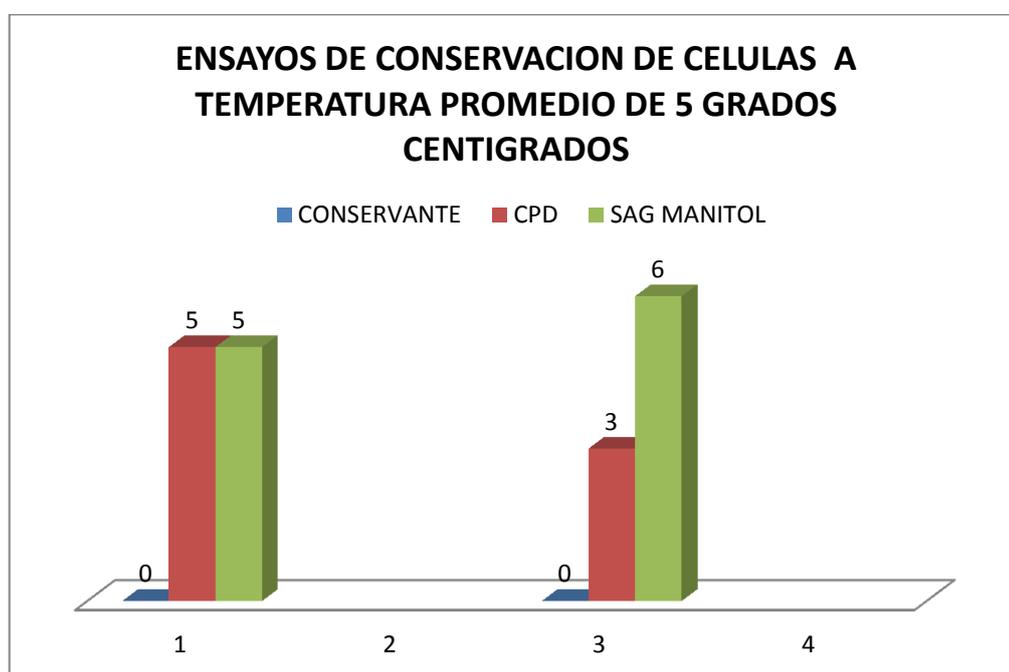
INTERPRETACION: Los hematíes suspendidos y conservados a temperatura promedio de 7 grados centígrados tienen vigencia y no presentan signo de hemólisis, hematíes con CPD 3 días y hematíes con SAG - manitol 5 días.

(TABLA N°11) ENSAYOS DE CONSERVACION DE CELULAS

CONSERVANTE	PROMEDIO DE CONSERVACION	VIGENCIA EN DIAS
CPD	5	3
SAG MANITOL	5	6

Fuente: Lab. de Inmunohematología del S.M.T del H.P.G.D de Riobamba
Diseño: Candida y Gladys

GRAFICO DE LA TABLA N°11



Grafico#10: Esquema de ensayos de conservación de células a 5°C.
Fuente: Lab. de Inmunohematología del S.M.T del H.P.G.D de Riobamba
Diseño: Candida y Gladys

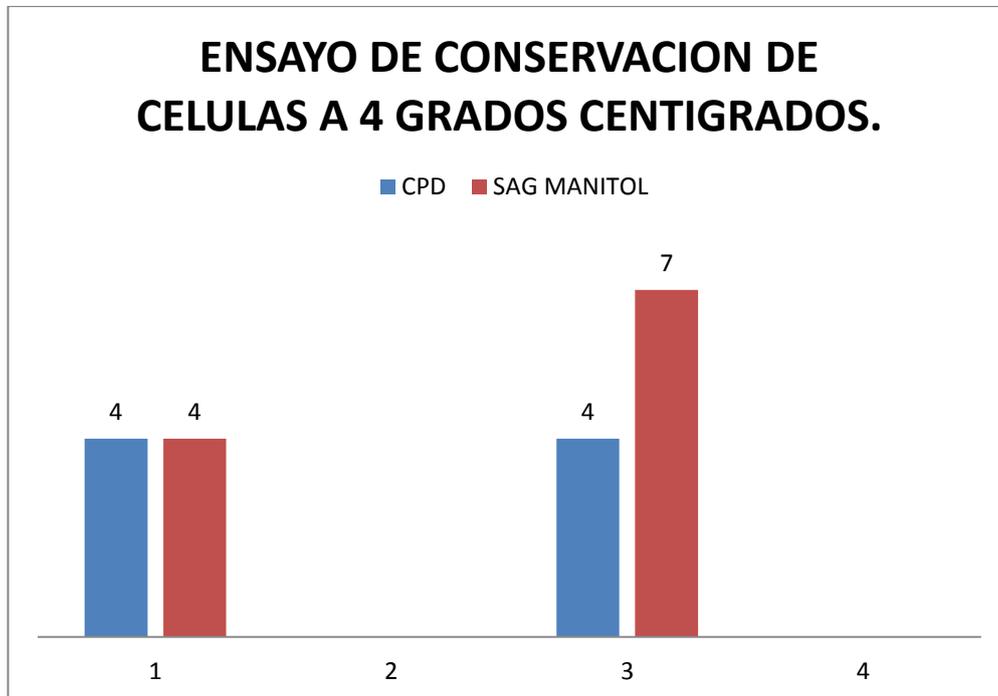
INTERPRETACION: La temperatura promedio de 5 grados centígrados los hematíes suspendidos y lavados mantienen una mejor prolongación de vida, se observa que los hematíes con SAG manitol se mantienen a seis días de vigencia a relación de tres días con CPD.

TABLA N°12 ENSAYOS DE CONSERVACION DE CELULAS

CONSERVANTE	PROMEDIO DE CONSERVACION	VIGENCIA EN DIAS
CPD	4	4
SAG MANITOL	4	7

Fuente: Lab. de Inmunohematología del S.M.T del H.P.G.D de Riobamba
Diseño: Candida y Gladys

GRAFICO DE LA TABLA N°12



Grafico#11: Esquema de ensayos de conservación de células a 4°C.
Fuente: Lab. de Inmunohematología del S.M.T del H.P.G.D de Riobamba
Diseño: Candida y Gladys

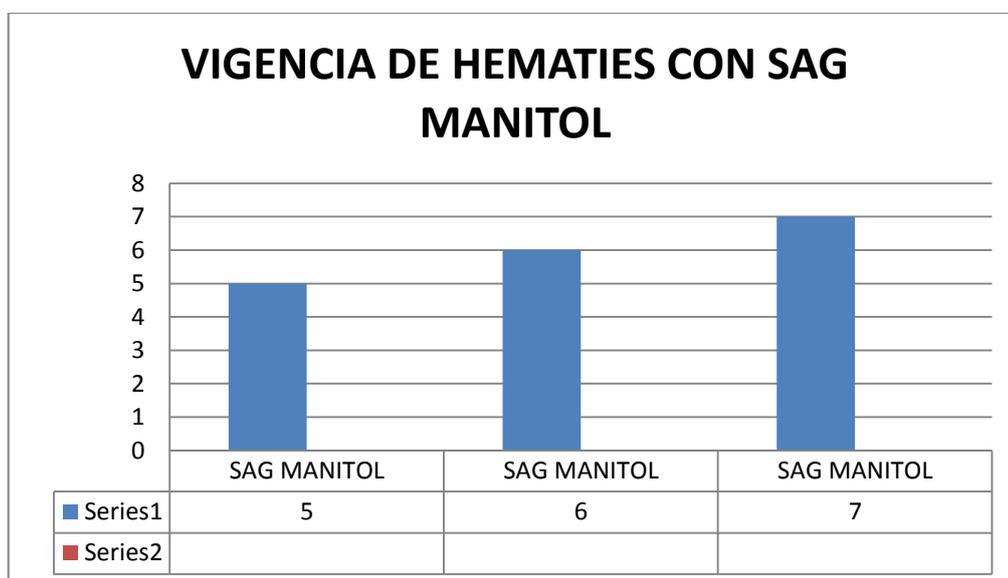
INTERPRETACION: La conservación de 4 grados centígrados, los hematíes denotan una conservación prolongada en días, sobre todo las células con SAG manitol, que se prolonga a 7 días.

TABLA N°13 ENSAYOS DE HEMATIES CON SAG-MANITOL

CONSERVANTE	VIGENCIA EN DIAS
SAG MANITOL	5
SAG MANITOL	6
SAG MANITOL	7

Fuente: Lab. de Inmunoematologia del S.M.T del H.P.G.D de Riobamba
Diseño: Candida y Gladys

GRAFICO DE LA TABLA N°13



Gráfico#12: Esquema de la vigencia de hemáties con SAG manitol.
Fuente: Lab. de Inmunoematologia del S.M.T del H.P.G.D de Riobamba
Diseño: Candida y Gladys

INTERPRETACION: El SAG manitol preserva mas tiempo a los hemáties, este factor es apoyado con la temperatura de conservación, si se mantiene en intervalos de 2 a 6 grados centígrados mas es el tiempo de

TABLA N°14 ANTICUERPOS EN GRUPOS SANGUÍNEOS

GRUPO	CELULAS A	CELULAS B	CELULAS O
O	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
A	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO
B	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
AB	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

Fuente: Lab. de Inmunohematología del S.M.T del H.P.G.D de Riobamba

Diseño: Candida y Gladys

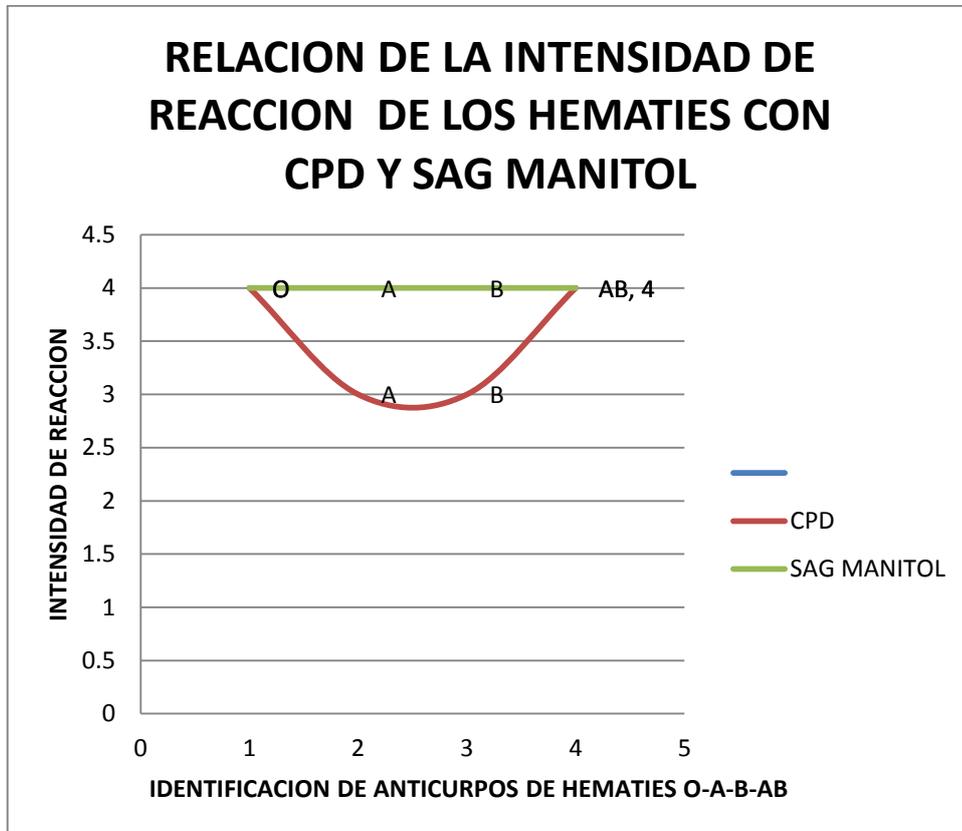
TABLA N°15 INTENSIDAD DE REACCION

GRUPO	CPD	SAG MANITOL
O	4	4
A	3	4
B	3	4
AB	4	4

Fuente: Lab. de Inmunohematología del S.M.T del H.P.G.D de Riobamba

Diseño: Candida y Gladys

GRAFICO DE LA TABLA N°15



Grafico#13: Esquema de la intensidad de reacción con CPD y SAG manitol.

Fuente: Lab. de Inmunoematología del S.M.T del H.P.G.D de Riobamba

Diseño: Candida y Gladys

INTERPRETACION: Los hematíes suspendidos y conservados con SAG manitol, mejoran los días de vigencia hasta 7 días con estabilidad de reacción máxima de cuatro cruces, los mismos hematíes con CPD expresan reacciones con menor intensidad y su estabilidad es menor a la relación del SAG manitol.

CAPITULO IV

4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 CONCLUSIONES.-

- Se concluye que al realizar la tipificación sanguínea, existe un alto porcentaje del grupo O en un porcentaje de 89%, a diferencia del grupo A con el 5%, B con el 4% y AB con el 2%.
- Al utilizar SAG MANITOL y CPD como conservantes en los hematíes, se define la prolongación de vida de aquellos hematíes mediante el apoyo de la temperatura de refrigeración, tomando en cuenta que el SAG MANITOL preserva mas tiempo de vida a los hematíes, a relación del CPD preserva pocos días.
- Se constató que al utilizar conservantes en los hematíes, deben ser controlados a temperaturas de 2 mínimo y 6°C como máximo.
- Para evitar posibles interferencias en los ensayos es muy importante que en la preparación de hematíes, mediante el lavado y suspensión de las células, como también de los reactivos se trabaje aplicando las normas de seguridad y control de calidad para evitar resultados erróneos.

4.2 RECOMENDACIONES.-

- Trabajar bajo estrictas normas de bioseguridad
- Realizar una adecuada toma de muestra para evitar equívocos.

- Realizar un correcto lavado y suspensión de células con solución salina.
- Nunca cambiar los goteros de un frasco a otro.
- No introducir pipetas u otro material en los frascos de antisuecos, tubos o reactivos.
- Observar correctamente la intensidad de reacción a través de una lámpara de luz.
- Para la centrifugación, la cantidad de muestra debe estar siempre equilibrada y así evitar vibraciones y desajustes de la centrifuga.
- Utilizar material limpio o estéril.
- No exceder el promedio de refrigeración para las muestras.
- Revisar los reactivos la fecha de caducidad.
- Dejar el laboratorio totalmente limpio y desinfectado para los posteriores trabajos.

CAPITULO V

5 BIBLIOGRAFIA

1. **Andrejus Korolkovas, Joseph H. Burckhalter.** Química Clínica. Barcelona: Editorial Reverté. S.A, 1983.pag: 433-435.
2. **Benjamin E, Leskowitz S.***Sistema Inmunologico.* New York : 2 da Edicion, 1993.
3. **Dra. Estrada María E. Vargas Alfonso. Dra. Díaz S. Martha** Laboratorio Clínico. La Habana: Ciencias Medicas, 2004. pag: 553 - 555.
4. **Johannes Muller, Boix Ignacio.** Trarado de Fisiologia. Madrid: 2^{da} Edicion. 1846. pag: 162 - 165.
5. **Mollison P.L.** Transfusion de Sangre en medicina Clinica. España: Editorial Reverté, S.A. 1987. pag: 177 - 180
6. **Ortiz Masllorens F.***Iniciacion a la Inmunohematologia.* Madrid : Fundacion Jimenez Diaz, 1997.
7. **Roitt I, Brostoff J, Maled.***Inmunohematologia.* Madrid : 4ta Edicion, 1977.
8. **Rioentino Gómez Susana, Rueda Ardila Nelly Susana, Gutiérrez María Fernanda.** La Inmunologia en el diagnostico clinico. Javeriano: Edicion Javeriano. 1994. pag: 31-36.
9. **Suardiaz Jorge, Cruz Celso, Colina Ariel.** *Laboratorio Clinico.* La Habana : Ciencias Medicas, 2004. pag: 406 - 410.

- **WEB BIBLIOGRAFICA**

1. http://www.ferato.com/wiki/index.php/Imagen:20081013_mgb_Inmunoglobulina
2. http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/a/a0/Factor_rh.
3. http://www.ferato.com/wiki/index.php/Imagen:20081013_mgb_Inmunoglobulina
4. <http://www.labmillennium.com.pe/imagenes/FactorRH.jpg&imgrefurl>
5. http://www.educa2.madrid.org/c/document_library/get_file?p_l_id=194476&groupId=34663&folderId=201596&name=DLFE-5229.pdf
6. <http://books.google.com.ec/books?id=R3Hn3NMt0zsC&pg=PA31&dq=CLASES+DE+ANTIGENOS&hl=es&sa=X&ei=T1GIT8XfDo7sggeYz7W1AQ&ved=0CDQQ6AEwAA#v=onepage&q=CLASES%20DE%20ANTIGENOS&f=false>
7. <http://es.wikipedia.org/wiki/Anticuerpo>

6 ANEXOS

6.1 TOTALIDAD DE ENSAYOS REALIZADOS DURANTE EL PERIODO DICIEMBRE 2011 A MARZO 2012

ENSAYOS	ANTI-A	ANTI-B	ANTI-AB	INTERPRETACION
1	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
2	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
3	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
4	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
5	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
6	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
7	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
8	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
9	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
10	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
11	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
12	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
13	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
14	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
15	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
16	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
17	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
18	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
19	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	B
20	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
21	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
22	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
23	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
24	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
25	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
26	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
27	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
28	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
29	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	B
30	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	A
31	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
32	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
33	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
34	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O

35	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
36	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
37	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
38	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
39	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
40	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	A
41	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
42	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
43	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
44	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
45	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
46	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
47	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
48	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	B
49	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
50	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
51	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
52	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
53	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
54	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
55	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
56	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
57	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
58	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
59	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
60	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	B
61	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
62	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
63	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
64	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
65	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
66	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
67	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
68	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
69	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	AB
70	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
71	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
72	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
73	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
74	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	B
75	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
76	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
77	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
78	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O

79	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
80	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
81	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
82	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
83	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	A
84	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	A
85	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
86	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
87	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
88	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
89	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
90	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
91	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
92	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
93	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
94	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
95	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
96	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
97	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
98	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
99	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
100	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
101	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	A
102	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
103	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
104	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
105	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
106	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
107	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
108	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
109	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	AB
110	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
111	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
112	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	AB
113	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
114	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
115	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
116	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
117	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
118	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
119	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
120	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
121	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
122	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O

123	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
124	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	A
125	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
126	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
127	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
128	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
129	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
130	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
131	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
132	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
133	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
134	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
135	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
136	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
137	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
138	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	A
139	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
140	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
141	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
142	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
143	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
144	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
145	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
146	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
147	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
148	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
149	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	O
150	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	A

6.2 FOTOS

LAVADO DE HEMATIES

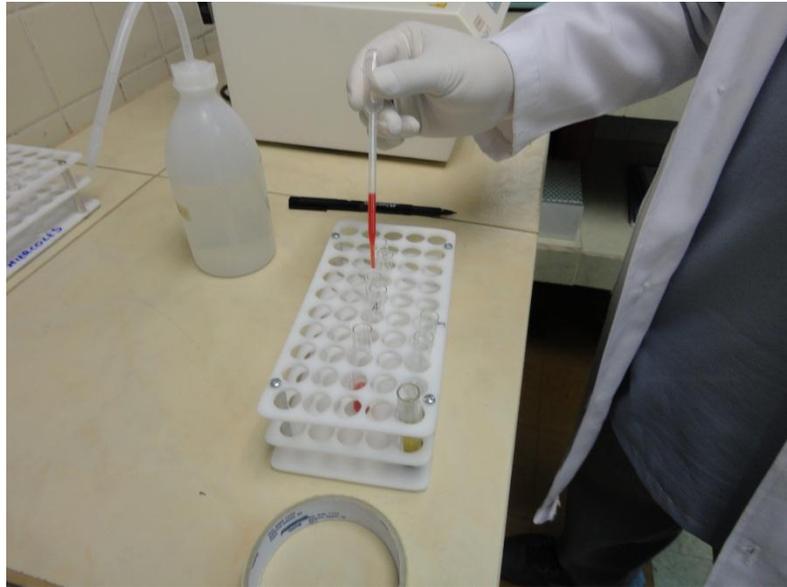


Foto #1: Lavado de hematíes (adicionando 1ml de hematíes).
Fuente: Diseño Candida y Gladys



Foto #2: Lavado de hematíes (añadir solución salina).
Fuente: Diseño Candida y Gladys

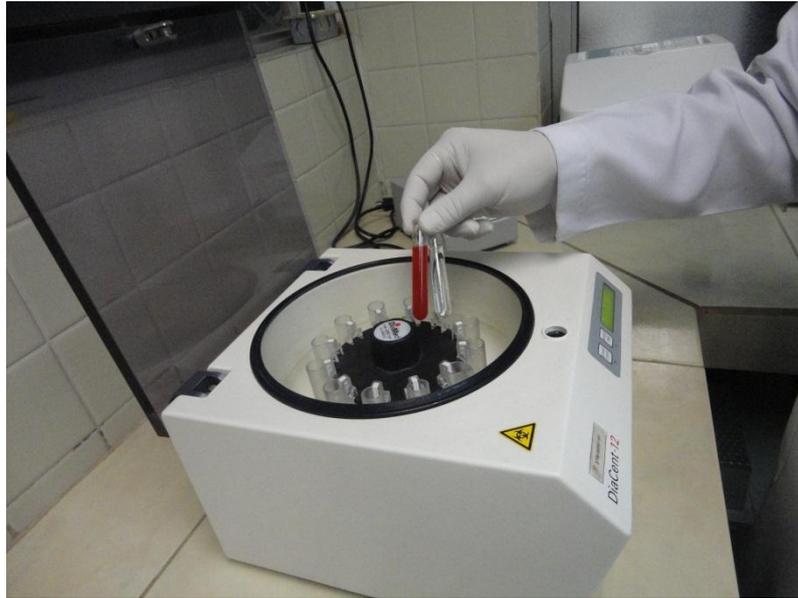


Foto #3: Lavado de hematíes (centrifugación 2min a 3000rpm).
Fuente: Diseño Candida y Gladys



Foto #4: Lavado de hematíes (retirar sobrenadante).
Fuente: Diseño Candida y Gladys



Foto #5: Lavado de hematíes (repetir 3 veces el proceso).
Fuente: Diseño Candida y Gladys

PRUEBA DIRECTA E INVERSA



Foto #6: Prueba Directa e Inversa (reactivos caseros).
Fuente: Diseño Candida y Gladys

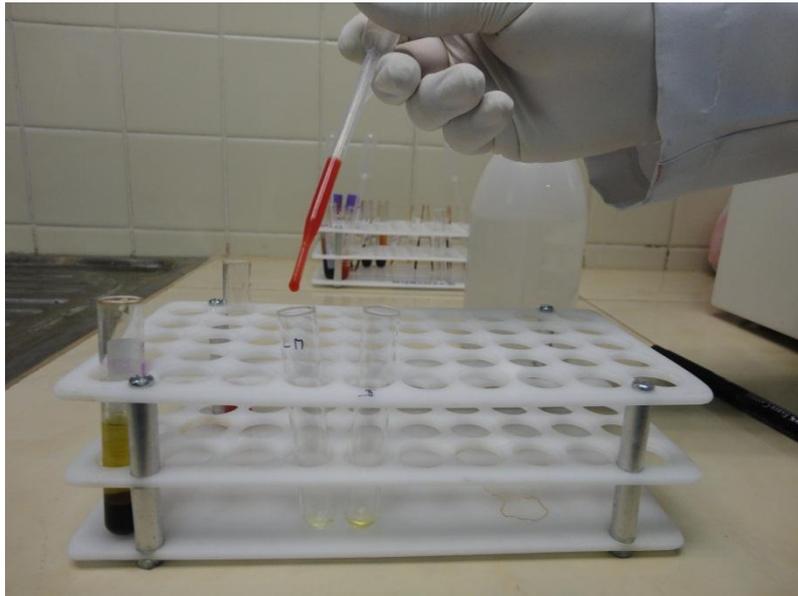


Foto #7: Prueba Directa e Inversa (añadir 1 gota de GR).
Fuente: Diseño Candida y Gladys

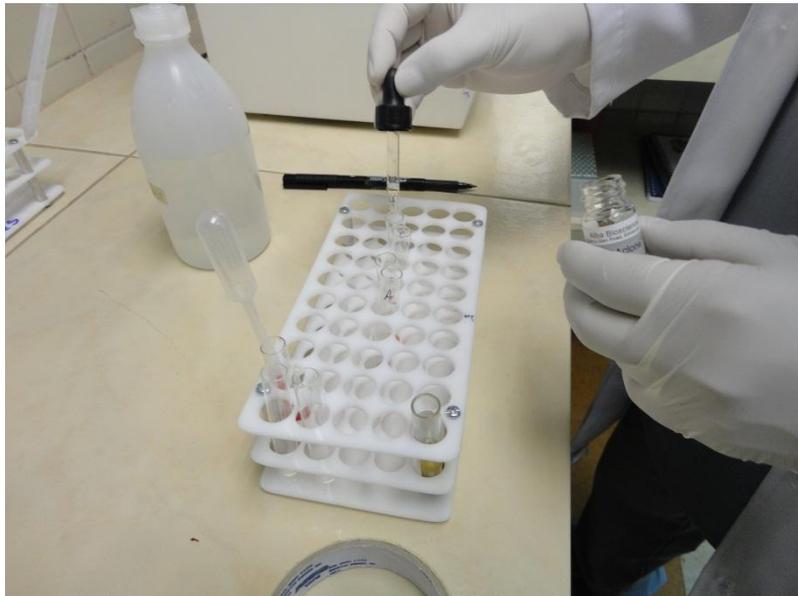


Foto #8: Prueba Directa e Inversa (añadir 1 gota de RGT).
Fuente: Diseño Candida y Gladys

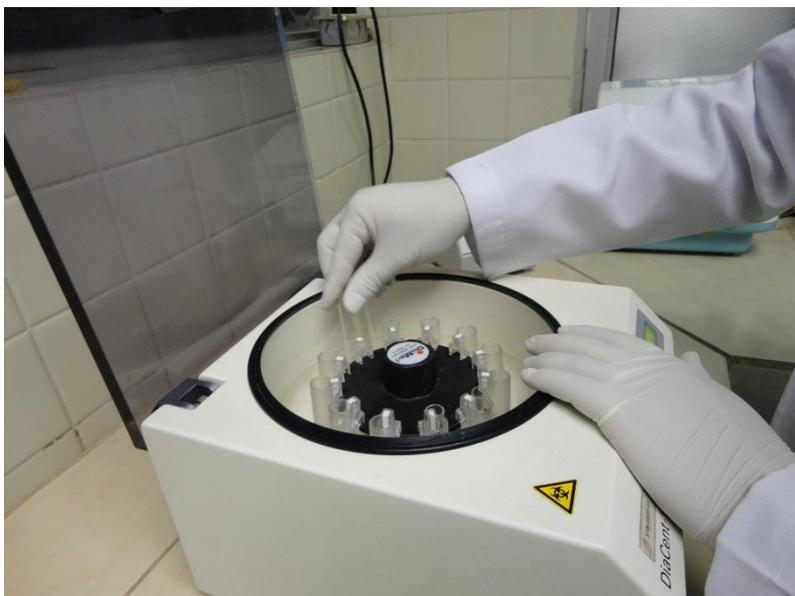


Foto #9: Prueba Directa e Inversa (centrifugar a 1000 rpm x 15-30 seg).
Fuente: Diseño Candida y Gladys

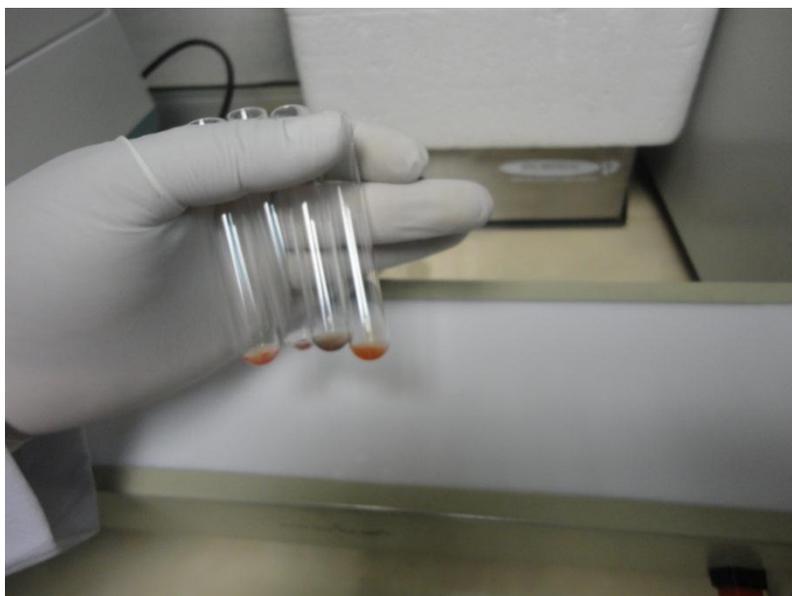


Foto #10: Prueba Directa e Inversa (observar resultados).
Fuente: Diseño Candida y Gladys