



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO

**TESINA DE GRADO PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
LICENCIADAS EN LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO**

TEMA:

“SELECTIVIDAD DE LA CALIDAD DE ANTISUEROS Y MEDIOS DE REACCIÓN, EMPLEADOS EN LA REALIZACIÓN DE LAS PRUEBAS INMUNOHEMATOLÓGICAS, MEDIANTE LA TITULACIÓN DE LA INTENSIDAD DE REACCIÓN, AL ENFRENTARLOS CON MUESTRAS DE SANGRE Y PLASMA DE LOS HEMODERIVADOS QUE OFERTA, EL SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HOSPITAL GENERAL DOCENTE DE RIOBAMBA, DURANTE EL PERÍODO NOVIEMBRE 2012 – ABRIL 2013”

AUTORAS:

Evelyn Viviana Castillo Cuadrado

María Fernanda Lara Samaniego

TUTOR: Lic. FERNANDO JARAMILLO

RIOBAMBA – ECUADOR



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO

TEMA:

“SELECTIVIDAD DE LA CALIDAD DE ANTISUEROS Y MEDIOS DE REACCIÓN, EMPLEADOS EN LA REALIZACIÓN DE LAS PRUEBAS INMUNOHEMATOLÓGICAS, MEDIANTE LA TITULACIÓN DE LA INTENSIDAD DE REACCIÓN, AL ENFRENTARLOS CON MUESTRAS DE SANGRE Y PLASMA DE LOS HEMODERIVADOS QUE OFERTA, EL SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HOSPITAL GENERAL DOCENTE DE RIOBAMBA, DURANTE EL PERÍODO NOVIEMBRE 2012 – ABRIL 2013”

Tesina de grado previo a la obtención del título de: Licenciadas en Ciencias de la Salud, Especialidad: Laboratorio Clínico e Histopatológico revisado y calificado por el tribunal dirigido.

LIC. ELIANA MARTÍNEZ

FIRMA

LIC. FERNANDO JARAMILLO

FIRMA

LIC. ELENA BRITO

FIRMA

ACEPTACIÓN DEL TUTOR

Por la presente, hago constar que he leído el protocolo del Proyecto de Grado, presentado por las Señoritas Evelyn Viviana Castillo Cuadrado portadora CI. 060412848-8 y María Fernanda Lara Samaniego portadora C.I 060394027-1, para optar al título de: Licenciadas en Ciencias de la Salud, Especialidad: Laboratorio Clínico e Histopatológico y que acepto asesorar a las estudiantes en calidad de tutor, durante la etapa del desarrollo del trabajo hasta su presentación y evaluación.

Riobamba, 12 de Noviembre de 2012

TUTOR

.....
LIC. FERNANDO JARAMILLO

DERECHOS DE AUTORÍA

Nosotras, Evelyn Viviana Castillo Cuadrado y María Fernanda Lara Samaniego, somos Responsables de las ideas, doctrinas, pensamientos y resultados expuestos en el presente trabajo de investigación, los derechos de autoría pertenecen a la **UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO**.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por su infinita sabiduría brindada.
Expresamos nuestros sinceros agradecimientos a todos los docentes, por compartir sus conocimientos y voluntad, para instruirnos como profesional.

A la Universidad Nacional de Chimborazo, y en especial a la Escuela de Tecnología Médica; por abrir sus puertas para prepararme y adquirir nuevos conocimientos.

Y un agradecimiento especial a nuestro tutor de tesis Lic. Fernando Jaramillo por su apoyo incondicional y sus acertadas sugerencias para el desarrollo de este trabajo.

DEDICATORIA

A nuestro Creador por darme la vida y guiarla siempre con su bondad infinita, colmándome de valor para alcanzar mis metas. A mi madre Hilda Cuadrado por su apoyo, comprensión y por estar presente en cada etapa de mi vida, por ser mi amiga y mi consejera. A mi padre Miguel Castillo por su apoyo y cariño; por creer en mí y ser mi ejemplo cada día. A mis hermanos Angélica, María, Jorge y Anahí Castillo por estar siempre junto a mí y darme el denuedo que necesito, por la alegría que me contagian con sus acciones. A mi familia y amigos por sus palabras de aliento y los buenos momentos compartidos.

Evelyn Castillo

DEDICATORIA

Dedico este trabajo con amor y agradecimiento a Dios por darme la vida y de esta forma lograr todas mis metas trazadas.

A mis bellos padres; ya que ellos fueron el pilar fundamental y por demostrarme constantemente su cariño, siempre me supieron incentivar para vencer los obstáculos y obtener el éxito. A mis hermanitos que han estado a mi lado dándome ánimos y por compartir conmigo los buenos y malos momentos. A mi familia en general por brindarme su apoyo y su comprensión en todo momento.

A mis amigos siempre estarán en mis recuerdos y en mi corazón, por el apoyo incondicional que me brindaron.

Fernanda Lara

RESUMEN

El tema de investigación titulado “Selectividad de la calidad de antisueros y medios de reacción, empleados en la realización de las pruebas inmunohepatológicas, mediante la titulación de la intensidad de reacción, al enfrentarlos con muestras de sangre y plasma de los hemoderivados que oferta, el Servicio de Medicina Transfusional del Hospital General Docente de Riobamba, durante el período Noviembre 2012 – Abril 2013”, se realizó con el propósito de emplear los reactivos adecuados para la realización de pruebas inmunohepatológicas lo que garantiza la confiabilidad de los ensayos destinados a evaluar la reacción antígeno – anticuerpo; para lo cual se efectuó diferentes variaciones en las técnicas, las mismas que serán detalladas con la finalidad de conocerlas bien y aplicarlas correctamente. Para hacer las diferentes pruebas inmunohepatológicas se utilizó técnicas de Tipificación Directa e Inversa las que permitieron determinar la presencia o ausencia de antígenos eritrocitarios al enfrentarlos con un anticuerpo específico, Coombs Directa e Indirecta demostró la presencia de inmunoglobulinas naturales e irregulares involucrados en las reacciones transfusionales, Pruebas de Compatibilidad garantiza la selección de los componentes de los hemoderivados a fin de evitar reacciones por incompatibilidad, con el uso adecuado de los reactivos, medios de reacción y tiempos, mediante las cuales se pudieron determinar las diferentes intensidades de reacción. Mediante la investigación realizada en los 250 ensayos, se concluyó que los medios de reacción Liss, Albúmina Bovina, Suero de Coombs, Reactivos monoclonales y policlonales son los adecuados para la aplicación de las técnicas ya que se pudo comprobar mediante la titulación de la intensidad de reacción efectuada, que la misma fue de 4 cruces hasta la dilución 1 en 32 lo que garantiza la confiabilidad de los resultados; por lo que se recomienda su utilización.

SUMMARY

The research topic entitled "Selectivity antisera quality and reaction media employed in the embodiment of immunohematology testing by titration of the reaction strength , to face them with blood samples and blood plasma of that bid, Transfusion Medicine Service General Teaching Hospital of Riobamba , during the period November 2012 - April 2013" was held for the purpose of employing suitable reagents for immunohematology testing which ensures the reliability of the tests to evaluate the reaction antigen - antibody, for which was made different variations in techniques, the same as will be detailed in order to know them well and apply them correctly. To make the different tests using immunological techniques used Forward and Reverse typing which allowed to determine the presence or absence of red cell antigens to face them with a specific antibody, Direct and Indirect Coombs showed the presence of natural and irregular immunoglobulins involved in transfusion reactions, Compatibility testing ensures the selection of the components of blood products to avoid incompatibility reactions, with proper use of the reactants, reaction media and time, by which they could determine the different intensities of reaction. Through research conducted in the 250 trials, it was concluded that the reaction media Liss, Bovine Albumin, Serum Coombs, monoclonal and polyclonal reagents are suitable for the application of the techniques and it was determined by titration of the intensity of reaction conducted, that it was 4 crosshairs to 1 in 32 dilution ensuring the reliability of the results, for what use is recommended.

ÍNDICE GENERAL

PORTADA.....	I
HOJA DEL TRIBUNAL	II
ACEPTACIÓN DEL TUTOR	II
DERECHOS DE AUTORÍA.....	IV
AGRADECIMIENTO	V
DEDICATORIA.....	VI
RESUMEN.....	VIII
SUMARY	IX
ÍNDICE GENERAL	1
ÍNDICE DE ABREVIATURAS	5
ÍNDICE DE ANEXOS.....	6
ÍNDICE DE FÍGURAS.....	8
ÍNDICE DE IMÁGENES.....	9
ÍNDICE DE TABLAS.....	10
ÍNDICE DE TABLAS ESTADÍSTICAS	11
ÍNDICE DE GRÁFICAS DE LAS TABLAS ESTADÍSTICAS.....	12
INTRODUCCIÓN.....	13
CAPÍTULO I.....	15
1 PROBLEMATIZACIÓN.....	15
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	15
1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	16

1.3	OBJETIVOS	17
1.3.1	OBJETIVO GENERAL	17
1.3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
1.4	JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA.....	17
CAPÍTULO II.....		20
2	MARCO TEÓRICO.....	20
2.1	POSICIONAMIENTO PERSONAL	20
2.2	FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	20
2.2.1	MEMBRANA DEL HEMATÍE	20
2.2.1.1	ESTRUCTURA	21
2.2.1.2	PROTEÍNAS	23
2.2.1.3	GLÚCIDOS	25
2.2.1.4	LÍPIDOS.....	26
2.2.2	MEDIOS DE REACCIÓN ANTÍGENO ANTICUERPO	27
2.2.2.1	FACTORES QUE AFECTAN A LA REACCIÓN ANTÍGENO ANTICUERPO	27
2.2.2.2	MEDIOS DE REACCIÓN	34
2.2.2.3	FACTORES QUE FAVORECEN A LA REACCIÓN ANTÍGENOS ANTICUERPOS RELACIONADA A LOS HEMATÍES.....	38
2.2.2.4	FACTORES QUE FAVORECEN A LA REACCIÓN ANTÍGENOS ANTICUERPOS RELACIONADA AL SUERO O PLASMA.....	40
2.2.2.5	COMPOSICIÓN DE LOS REACTIVOS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN DE LOS ANTÍGENOS ERITROCITARIOS	44

2.2.3 ENSAYOS INMUNOHEMATOLÓGICOS BÁSICOS APLICADOS A LA IDENTIFICACIÓN DE ANTÍGENOS Y ANTICUERPOS DE LOS ERITROCITOS.....	51
2.2.3.1 TITIFICACIÓN SANGUÍNEA DIRECTA ABO.....	51
2.2.3.2 TIPIFICACIÓN SANGUÍNEA INVERSA ABO.....	55
2.2.3.3 TITIFICACIÓN RH FENOTIPOS MAYORES Y MENORES	58
2.2.3.4 PRUEBAS DE COOMBS DIRECTA.....	61
2.2.3.5 PRUEBA DE COOMBS INDIRECTA.....	64
2.2.3.6 PRUEBAS DE COMPATIBILIDAD	68
2.2.4 CALIDAD DE LOS ANTISUEROS Y MEDIOS DE REACCIÓN APLICADOS EN PRUEBAS INMUNOHEMATOLÓGICAS	75
2.2.4.1 CALIBRACIÓN DE CENTRÍFUGAS.....	75
2.2.4.2 PREPARACIÓN DE CÉLULAS ABO.....	78
2.2.4.3 PREPARACIÓN DE CÉLULAS CONTROL - COOMBS.....	79
2.2.4.4 VALORACIÓN DE LA AVIDEZ DE ANTISUEROS: Anti-A, Anti-B, Anti-AB, Anti-D, Anti-C, Anti-c, Anti-E, Anti-e, Anti-CDE	81
2.2.4.5 VALIDACIÓN DE MEDIOS DE REACCIÓN.....	82
2.3 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS.....	82
2.4 HIPÓTESIS Y VARIABLES	85
2.4.1 HIPÓTESIS.....	85
2.4.2 COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS	85
2.4.3 VARIABLES	86
2.5 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....	87
CAPÍTULO III.....	88

3 MARCO METODOLÓGICO.....	88
3.1 MÉTODO CIENTÍFICO.....	88
3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA.....	90
3.2.1 POBLACIÓN.....	90
3.2.2 MUESTRA.....	90
3.3 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS...90	
3.4 ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	91
 CAPÍTULO IV.....	 107
 4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	 107
4.1 CONCLUSIONES.....	107
4.2 RECOMENDACIONES.....	108
BIBLIOGRAFÍA.....	109
ANEXOS.....	111

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

Nanómetro.....	nm.
Alfa.....	α
Beta.....	β
Microgramos.....	ug.
Mililitro.....	ml.
Grados Celsius.....	°C
Antígeno.....	Ag
Anticuerpo.....	Ac
Ácido Etilendiaminotetraacético.....	EDTA
Glóbulos Rojos.....	GR
Microlitros.....	ul
Revoluciones por minuto.....	r.p.m.
Solución Salina de Baja Fuerza Iónica.....	SSBFI

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO N° 1: Registro Diario de Temperaturas Noviembre 2012 – Abril 2013	112
ANEXO N° 2: Registro de Control de Temperaturas de los Antisueros y Medios de Reacción Período Noviembre 2012 - Abril 2013	114
ANEXO N° 3: Promedio de Control de Temperaturas de los Antisueros y Medios de Reacción Período Noviembre 2012 - Abril 2013	114
ANEXO N° 4: Valoración de la Intensidad de Reacción de Antisueros para Identificación de Grupos ABO	115
ANEXO N° 5: Valoración de Pantallas Incubación de Liss Cinco Minutos	118
ANEXO N° 6: Valoración de Pantallas Incubación de Liss Quince Minutos	120
ANEXO N° 7: Valoración de Pantallas Incubación con Albumina Bovina Treinta Minutos	122
ANEXO N° 8: Muestra con EDTA	124
ANEXO N° 9: Reactivo Liss	124
ANEXO N° 10: Reactivo Coombs	124
ANEXO N° 11: Reactivos Anti-Lectinas	125
ANEXO N° 12: Solución Salina	125
ANEXO N° 13: Lámpara Luz Blanca	125
ANEXO N° 14: Separación del Plasma	126
ANEXO N° 15: Poner la Solución Salina	126
ANEXO N° 16: Centrifugación	126
ANEXO N° 17: Decantación	127
ANEXO N° 18: Muestra Lavada	127

ANEXO N° 19: Muestra Suspendida (1/20)	127
ANEXO N° 20: Reactivos de Tipificación	128
ANEXO N° 21: Colocar el Reactivo	128
ANEXO N° 22: Muestra Centrifugada	128
ANEXO N° 23: Lectura	129
ANEXO N° 24: Suero del Paciente	129
ANEXO N° 25: Células ABO	129
ANEXO N° 26: Lectura	130
ANEXO N° 27: Células Lavadas y Suspendidas	130
ANEXO N° 28: Colocar Antiglobulina Humana	130
ANEXO N° 29: Centrifugación	131
ANEXO N° 30: Colocar Control Coombs	131
ANEXO N° 31: Centrifugación	131
ANEXO N° 32: Lectura	132
ANEXO N° 33: Muestra del Donante	132
ANEXO N° 34: Muestra en Investigación	132
ANEXO N° 35: Centrifugación	133
ANEXO N° 36: Colocar Albúmina Bovina	133
ANEXO N° 37: Centrifugación	133
ANEXO N° 38: Incubación de las Muestras	134
ANEXO N° 39: Lavar la Muestra	134
ANEXO N° 40: Colocar Antiglobulina Humana	134
ANEXO N° 41: Centrifugación	135
ANEXO N° 42: Lectura	135

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N° 1: Membrana Eritrocitaria	21
FIGURA N° 2: Estructura de la Membrana Eritrocitaria.....	22
FIGURA N° 3: Proteínas de la Membrana Eritrocitaria.....	23
FIGURA N° 4: Estructura de los Oligosacáridos	25
FIGURA N° 5: Lípidos de la Membrana Eritrocitaria	26
FIGURA N° 6: Antígenos y Anticuerpos.....	28
FIGURA N° 7: Escala pH.....	29
FIGURA N° 8: Velocidad de Fijación Antígeno al Anticuerpo Correspondiente	30
FIGURA N° 9: Especificidad de la Inmunoglobulina G por su Antígeno ...	31
FIGURA N° 10: Potencial Zeta	33
FIGURA N° 11: Hematíes Sensibilizados por Moléculas de IGG	34
FIGURA N° 12: Prueba de Coombs Directo	62
FIGURA N° 13: Prueba de Coombs Indirecto	66

ÍNDICE DE IMÁGENES

IMAGEN N° 1: Solución Salina	34
IMAGEN N° 2: Liss	35
IMAGEN N° 3: Albúmina Bovina	36
IMAGEN N° 4: Reactivos Anti-A, Anti-B, Anti-AB	44
IMAGEN N° 5: Reactivos de Lectinas: Anti-A1, Anti-H.....	45
IMAGEN N° 6: Reactivo Anti-Kell.....	46
IMAGEN N° 7: Reactivo Anti - D.....	47
IMAGEN N° 8: Reactivos Del Sistema Rh: Anti-C, Anti-E, Anti-e, Anti-c..	48
IMAGEN N° 9: Reactivo Liss	49
IMAGEN N° 10: Reactivo Antiglobulina Humana	49
IMAGEN N° 11: Reactivo Albúmina Bovina	50

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° 1: Composición de los Reactivos del Sistema ABO: Anti-A, Anti-B, Anti-AB	44
TABLA N° 2: Composición de los Reactivos de Lectinas: Anti - A1, Anti-H.....	45
TABLA N° 3: Composición del Reactivo Anti-Kell	46
TABLA N° 4: Composición del Reactivo Anti-D.....	47
TABLA N° 5: Composición de los Reactivos del Sistema Rh: Anti-C, Anti-E, Anti-e, Anti-c	48
TABLA N° 6: Interpretación de los Resultados de la Tipificación Directa.....	53
TABLA N° 7: Interpretación de los Resultados de la Tipificación Indirecta.....	57
TABLA N° 8: Aidez De Los Antisueros.....	81
TABLA N° 9: Validación De Medios De Reacción.....	82

ÍNDICE DE TABLAS ESTADÍSTICAS

TABLA ESTADÍSTICA N° 1: Valoración Promedio del Registro de Temperatura Noviembre 2012 – Abril 2013	92
TABLA ESTADÍSTICA N° 2: Intensidad de Reacción con Anti - A Monoclonal	94
TABLA ESTADÍSTICA N° 3: Intensidad de Reacción con Anti - A Policlonal y Monoclonal	96
TABLA ESTADÍSTICA N° 4: Valoración de la Intensidad de Reacción del Grupo AB utilizando Reactivos Monoclonal y Policlonal	98
TABLA ESTADÍSTICA N° 5: Valoración de Pantallas Incubación de Liss Cinco Minutos	100
TABLA ESTADÍSTICA N° 6: Valoración de Pantallas Incubación de Liss Quince Minutos.....	100
TABLA ESTADÍSTICA N° 7: Valoración de Pantallas Incubación con Albúmina Bovina Treinta Minutos	102
TABLA ESTADÍSTICA N° 8: Dilución del Reactivo Anti-CDE Potenciado con Liss	103
TABLA ESTADÍSTICA N° 9: La Medición de Reacción de la Antiglobulina Humana.....	105

ÍNDICE DE GRÁFICAS DE LAS TABLAS ESTADÍSTICAS

GRÁFICA DE LA TABLA ESTADÍSTICA N° 1: Valoración Promedio del Registro de Temperatura Noviembre 2012 – Abril 2013	92
GRÁFICA DE LA TABLA ESTADÍSTICA N° 2: Intensidad de Reacción con Anti - A Monoclonal.....	94
GRÁFICA DE LA TABLA ESTADÍSTICA N° 3: Intensidad de Reacción con Anti - A Policlonal y Monoclonal.....	96
GRÁFICA DE LA TABLA ESTADÍSTICA N° 4: Valoración de la Intensidad de Reacción del Grupo AB Utilizando Reactivos Monoclonal y Policlonal	98
GRÁFICA DE LA TABLA ESTADÍSTICA N° 5: Valoración de Pantallas Incubación de Liss Cinco Minutos.....	100
GRÁFICA DE LA TABLA ESTADÍSTICA N° 6: Valoración de Pantallas Incubación de Liss Quince Minutos	101
GRÁFICA DE LA TABLA ESTADÍSTICA N° 7: Comparación de Resultados Liss y Albúmina por Tiempo de Incubación	102

INTRODUCCIÓN

Para la realización, de las pruebas que permiten determinar la presencia o ausencia de los antígenos de los grupos sanguíneos, los anticuerpos naturales e irregulares, se requiere de la selectividad de anti sueros, células reactivas, sean éstas comerciales o las llamadas caseras, que tengan cierta particularidad para poder identificar a estos elementos, evitando las reacciones inespecíficas en el organismo del paciente cuando se transfunde hemoderivados.

Así mismo es importante, el poder evaluar los antígenos y anticuerpos que estén presentes en el organismo de un paciente, y que causen reacciones inmunológicas con sus propias células.

Los servicios transfusionales, en los cuales se les incluye a los bancos de sangre, depósitos de sangre, servicios de medicina transfusional, deben tener un cronograma y procedimiento de actividades que les permitan optar por la selección de estos reactivos de manera técnica, equilibrando y coordinando los rubros económicos invertidos con la calidad de los reactivos.

No solamente el adquirir buenos reactivos es fundamental para el éxito de estas pruebas, si no también conservarlos adecuadamente, para poder de esta manera mantener íntegra su composición, su poder de reacción para que le permita identificar y reaccionar con la más mínima carga de antígenos y anticuerpos, es decir preservar la sensibilidad de estos reactivos.

Los procedimientos utilizados para la ejecución de las prácticas, son factores de vital importancia que permitirán validar la calidad de estos reactivos, a su vez el equipamiento que tienen los laboratorios de inmunohematología y los de los bancos de sangre, deben ser de alta calidad, respetando tiempos e intervalos de velocidades y revoluciones al utilizar centrífugas, respetar los intervalos de tiempos y temperaturas de los medios de reacción como son baño María, termo bloques.

La intensidad de la reacción, con la que se denota los resultados, son el indicativo básico y primordial de la valoración y la efectividad de estos, así por ejemplo se trabaja con patrones de células ya identificadas, que permita sus resultados relacionar, la intensidad de la reacción que debe manifestarse al utilizarse nuevos reactivos o al adquirir nuevos lotes.

Al no disponer de un sistema de validación de estos reactivos previos a su utilización se juega un papel incierto, de la calidad de ensayos, cuando se enfrenten en el laboratorio, a la realización de pruebas, en donde los antígenos de los eritrocitos, presenten variaciones, alteraciones en su carga antigénica.

CAPÍTULO I

1 PROBLEMATIZACIÓN

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los programas de control de calidad, resultan procedimientos en muchos de los casos fastidiosos para los operadores, por las normativas, reglamentaciones, procesos que deben ser cumplidos antes, durante y después de los ensayos.

El validar los controles de los reactivos para utilizarse en los servicios de sangre, es fomentar un respaldo periódico y continuo para apoyarse en la calidad de los resultados, los prestigios de las entidades de servicio y del personal que ejecuta aplica, los procedimientos.

Los servicios de bancos de sangre tienen modalidades para ejercer un control de todos los mecanismos físicos utilizados para los ensayos, como también del operador técnico que ejecuta estos ensayos.

Los controles de calidad usados son externos e internos, en el primero debe ser ejercido por los organismos oficiales que tengan a su cargo el control de los laboratorios de los Servicios de Sangre, mediante las visitas periódicas realizadas, sin previo aviso, ejecutados por funcionarios entrenados en el campo de Inmunohematología y en el cual se quieran todas las dependencias de calidad, cantidad de personal, técnicas y archivos que se utilizan.

Los controles internos, son procedimientos que cada laboratorio del servicio de medicina transfusional, servicios de sangre general llevan a cabo, diariamente, semanalmente, trimestralmente de acuerdo a sus necesidades.

Los procedimientos manuales que dispongan estos servicios permiten explicar exactamente las técnicas y procedimientos utilizados de todos y todas las personas técnicas que operan en estas unidades.

Así como es importante escoger la calidad del personal que va a laborar en estos servicios es importante también escoger los materiales, insumos y reactivos que se utilizarán en ejecución de estos procedimientos, muchas reacciones y desastres lamentables en definitiva ante una transfusión sea de sangre o de sus hemoderivados es por la falta de cuidado, al no utilizar sistemas adecuados que identifiquen el no seguir normas, técnicas que aconsejan los manuales de procedimientos, los controles de los anti sueros por tener un origen animal, vegetal y humano están sujetos a variaciones biológicas, en los de origen humano todos sabemos que la inmunización de estos donantes han ocurrido en diferentes formas y en cada uno de ellos por esto puede responder de una manera diferente ante el estímulo o cuando esté en contacto con antígeno.

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Qué importancia tiene el seleccionar los antisueros y medios de reacción que se utilizan en las pruebas inmunohepatológicas por los servicios de sangre mediante la titulación de la intensidad de reacción?

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

- ✓ Seleccionar los antisueros y medios de reacción, empleados en la realización de las pruebas inmunohematológicas, mediante la titulación de la intensidad de reacción, al enfrentarlos con muestras de sangre y plasma de los hemoderivados que oferta, el servicio de Medicina Transfusional del HOSPITAL GENERAL DOCENTE DE RIOBAMBA, durante el período Noviembre 2012 - Abril 2013”

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Conocer e identificar los componentes de los eritrocitos, como de sus funciones en las reacciones antígeno anticuerpo.
- ✓ Utilizar los medios de reacción apropiados para la interacción de los complejos antígeno – anticuerpo, que serán identificados en las pruebas inmunohematológicas.
- ✓ Experimentar ensayos inmunohematológicos, mediante la aplicación de técnicas y procedimientos, que permitan descartar interferencias en los resultados obtenidos.
- ✓ Valorar la calidad de los antisueros empleados en las pruebas inmunohematológicas, mediante la evaluación de la avidéz, afinidad e intensidad de reacción.

1.4 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA

Una de las actividades más importantes, en los servicios de transfusión o de sangre es escoger al personal, el escogimiento de este personal debe estar conformado por profesionales muy bien calificados, con un alto sentido de la responsabilidad y como un buen control de sí mismo, que les permita manejar cualquier situación de emergencia y de fuerte presión psicológica con tranquilidad y eficacia, el entrenamiento del personal debe ser diario continuo, el propósito de los ensayos inmunohematológicos, que se realizan diariamente deben ser lo más perfecto posible y tener siempre presente que es la vida de muchos pacientes las que tenemos entre manos, por ello el compromiso de trabajo no sólo está al cumplimiento de hacer por hacer, sino de servir a vidas humanas comprometidas por hechos o factores que ponen en riesgo su integridad pronóstico de vida.

Calidad, variedad, precios existen en el mercado para adquirir los reactivos, equipos y suministros que serán empleados en los servicios de sangre.

Una de las claves fundamentales para tener éxito en los procedimientos, es seguir al pie de la letra las especificaciones que describen las casas comerciales cuando se emplean estos reactivos, valorar entre varios factores está la especificidad de los reactivos, la potencia, la avidéz, la titulación de la dirección del antisuero en este se mide la fuerza que tiene el reactivo o anticuerpo en su composición cuando se efectúan diluciones para incrementar un medio disolvente en el cual se suspenderán los anticuerpos y se valore la rapidez de la reacción y la fuerza, que se expresa e intensidades o cruces de reacción.

La avidéz del título, deben determinarse con cada nuevo lote de antisuero y el resultado debe anotarse en las hojas de control de calidad si los reactivos no son aceptables se notificará al representante de la casa

comercial para solicitar el cambio de estos medios de reacción y directivos de igual manera se sugerirá, el cambio de casa comercial si el caso así lo amerite.

CAPÍTULO II

2 MARCO TEÓRICO

2.1 POSICIONAMIENTO PERSONAL

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

2.2 FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.2.1 MEMBRANA DEL HEMATÍE

La membrana eritrocitaria tiene una estructura compuesta, siendo integrada por una bicapa de lípidos, hallándose anclada a una red de proteínas que forman el citoesqueleto.

La membrana del glóbulo rojo forma una frontera entre el interior de la célula y el plasma. Así, integra una barrera que permite mantener altas concentraciones de hemoglobina y cifras diferentes de iones y metabolitos en plasma.

La característica principal de la membrana es su insolubilidad al agua y esto se debe a que está integrada al más del 50 % por lípidos que forman

una bicapa. El 95% total de lípidos de la membrana lo integran los fosfolípidos y el colesterol no esterificado.

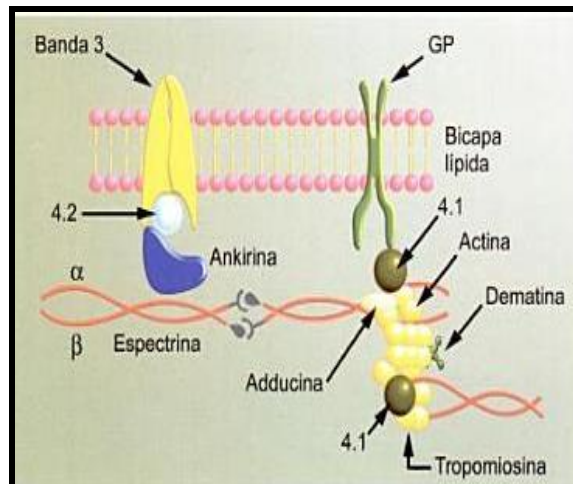


FIGURA N° 1: MEMBRANA ERITROCITARIA
FUENTE: <http://www.drscope.com>

Estos lípidos se hallan en concentraciones equimolares y en conjunto con otros lípidos (glucolípidos, glicéridos y ácidos grasos), constituyen una bicapa en forma de “hojuela” bimolecular, en donde los grupos polares de cada capa emergen al ambiente hidrofílico del citoplasma o del plasma, mientras que las terminaciones de estas moléculas, situadas en la porción central de la bicapa, forman el centro hidrofóbico de la membrana. Este centro hidrofóbico facilita la flexibilidad y deformación de la membrana del glóbulo rojo.

Muchas de las proteínas de la membrana se insertan en ella a través de esta matriz lipídica, permitiendo que la parte de estructura proteica esté en citoplasma y parte en contacto con el plasma. “RUIZ Arguelles; Guillermo, *Fundamentos de Hematología, 4ta Edición, Cap. VI, Características y componentes de la membrana eritrocítica, Pág. 63-64, 2009*”

2.2.1.1 ESTRUCTURA

La membrana plasmática del eritrocito, es una bicapa lipídica típica. Está compuesta por cerca de un 50 % de proteínas, un 40 % de lípidos y un 10 % de hidratos de carbono.

La mayor parte de las proteínas que la componen son proteínas integrales, principalmente la glucoforina y la banda 3. La glucoforina A, constituye hasta el 75 % de las glucoproteínas de la membrana del eritrocito. La banda 3 contiene en su composición una cantidad relativamente pequeña de carbohidratos.

Sus aminoácidos están dispuestos en una estructura cuaternaria que forma un canal aniónico a través del cual se intercambian los iones cloruro por iones bicarbonato, dependiendo de la concentración de bicarbonato en el interior del eritrocito.

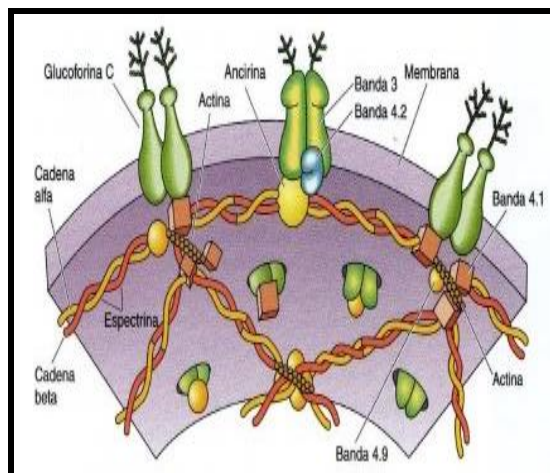


FIGURA N° 2: ESTRUCTURA DE LA MEMBRANA ERITROCITARIA
FUENTE: <http://hacefaltatodaunavida.blogspot.com/>

El principal componente del citoesqueleto del eritrocito es la espectrina, proteína fibrosa flexible de casi 100 nm. de longitud, compuesta por dos cadenas (α y β) enrolladas una sobre la otra. La espectrina se fija a la superficie interna de la membrana por medio de otra proteína periférica llamada anquirina, que a su vez se une a la banda 3 de la membrana. “GAL Iglesias; Beatriz, Bases de la Fisiología, 2da Edición, Cap. V, Estructura, Pág. 102-103, 2007”

2.2.1.2 PROTEÍNAS

La membrana del glóbulo rojo, es en sí una red de proteínas en la superficie interna de la membrana, manteniendo la forma y estabilidad de estas células. Las principales proteínas que componen la membrana son: espectrina, actina, proteína 4.1, adducina, ankirina, tropomiosina, tromodulina, dematina (banda 4.9), transportador de aniones (banda 3), la banda 4.2 y el anclaje glucolípido.

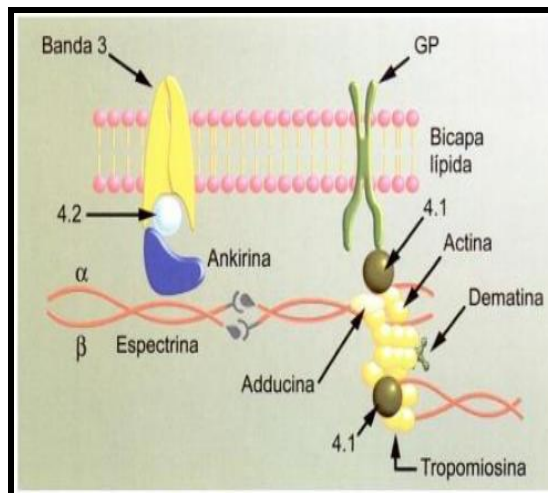


FIGURA N° 3: PROTEÍNAS DE LA MEMBRANA ERITROCITARIA
FUENTE: <http://www.drscope.com>

La espectrina está compuesta por dos subunidades α y β . Son estructuralmente distintas y son codificadas por genes diferentes.

La proteína 4.1 es una de las más abundantes del esqueleto del glóbulo rojo. Están presentes aproximadamente 200.000 copias por célula. La proteína 4.1 alcanza los dímeros espectrina con la glucoforina y con la actina. Esta proteína es de aproximadamente 80 kDa.

La adducina actúa como un factor de ensamblaje entre la espectrina y la actina. Está formada por dos unidades: α de 103 kDa y β de 97 kDa.

La ankirina o banda 2.1 es la principal proteína que participa la fijación del citoesqueleto. Hay 100.000 copias de ankirina por eritrocito y corresponde a una ankirina por tetrámero de espectrina. La ankirina se fija por un lado a la banda 3 o transportadora de aniones y por otro a la espectrina β .

La tropomiosina es una proteína de 60 kDa y representa 1 % del total de las proteínas de la membrana del glóbulo rojo con 70.000 a 80.000 copias por célula. Esta proteína estabiliza los filamentos de actina.

La tropomodulina, polipéptido de 43 kDa, modula la interacción de la tropomiosina con los filamentos de actina y contribuye en el alargamiento de estos filamentos.

La banda 4.9 (dematina), participa en la estabilización de la membrana a través de la fosforilización del AMP cíclico mediante la cinasa de proteínas. El transportador de intercambios de aniones (banda 3, AE1) permite el flujo de HCO_3^- de la célula de intercambio con Cl^- plasmático para así equilibrar el HCO_3^- entre los glóbulos rojos y el plasma. Por su interacción con la ankirina, forma parte del citoesqueleto y participa en las propiedades mecánicas del glóbulo rojo.

La banda 4.2 es una proteína de 72 kDa que contribuye aproximadamente con 5 % del contenido proteico de la membrana y está presente en 200.000 copias por célula. La función de esta proteína aún se desconoce.

El anclaje glucolípido de las proteínas de la superficie de la membrana en una estructura que se fija en la bicapa lipídica y está formado por un complejo que incluye fosfatidilinositol, glucosamina, manosa y etanolamina. Se ha denominado también “anclaje de

glucosilfosfatidilinositol”. Un conjunto de proteínas externas de la membrana se fijan a través del GPI. “RUIZ Arguelles; Guillermo, *Fundamentos de Hematología, 4ta Edición, Cap. VI, Características y componentes de la membrana eritrocítica, Pág. 64-65, 2009*”

2.2.1.3 GLÚCIDOS

Los glúcidos se encuentran en forma de oligosacáridos unidos covalentemente a proteínas formando así las glucoproteínas, y, en menor medida, unidos a lípidos, dando así lugar a glucolípidos. Entre los azúcares que se encuentran en las glucoproteínas y glucolípidos están la glucosa, la galactosa, la manosa, la fucosa, la N-acetilgalactosamina, la N-acetilglucosamina y el ácido siálico.

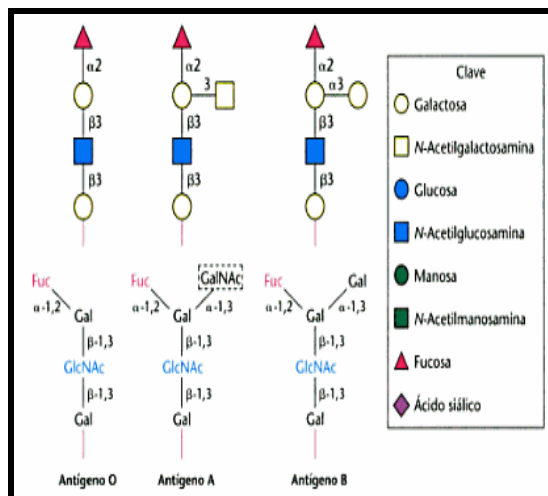


FIGURA N° 4: ESTRUCTURA DE LOS OLIGOSACÁRIDOS
FUENTE: books.google.com.ec/books?isbn=8429176004

Los grupos sanguíneos humanos ABO ilustran los efectos de las glicosiltransferasas. Los azúcares se unen a glicoproteínas y glicolípidos de la superficie de los eritrocitos. En cada tipo de grupo sanguíneo debe existir una de las tres diferentes estructuras, denominadas, A, B y O. Estas estructuras tienen en común un oligosacárido fundamental llamado antígeno O. Los antígenos A y B difieren de O por la adición de un

monosacárido extra, a saber, N-acetilgalactosamina (para A) o galactosa (para B) unido por medio de un enlace α 1.3-glicosídico a una galactosa integrante del antígeno O.

Unas glicosiltransferasas específicas son las que añaden este monosacárido extra al antígeno O cada individuo hereda el gen de una glicosiltransferasa de este tipo de cada progenitor. La transferasa de tipo A añade específicamente N-acetilgalactosamina, mientras que la del tipo B añade galactosa. Estas enzimas son idénticas en sus 354 posiciones de aminoácidos, excepto en 4 de ellas. El fenotipo O es el resultado de una mutación que provoca la terminación prematura de la traducción y por consiguiente no se produce la glicosiltransferasa necesaria para añadir más carbohidratos. "BERG; Jeremy, *Bioquímica, 6ta Edición, Cap. XI, Carbohidratos, Pág. 315, 2008*"

2.2.1.4 LÍPIDOS

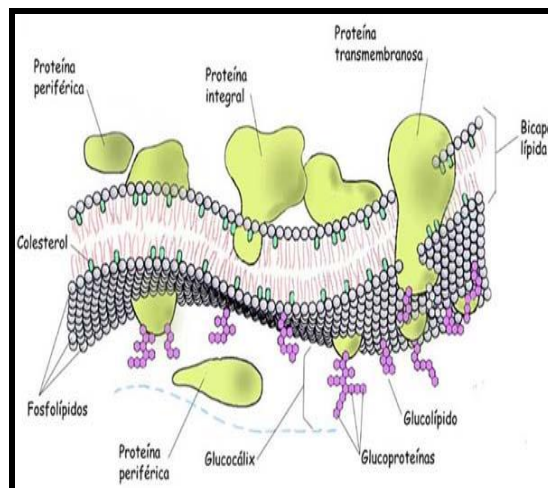


FIGURA N° 5: LÍPIDOS DE LA MEMBRANA ERITROCITARIA
FUENTE: gori-gori.blogspot.com

Los lípidos de la membrana del hematíe son de tres tipos: colesterol no esterificado, los fosfolípidos y glicolípidos. El colesterol de la membrana de un eritrocito maduro se encuentra en equilibrio con el plasmático. La

mayor proporción de los lípidos de la membrana corresponde a los fosfolípidos, entre los que destaca la fosfatilcolina, la fosfatidiletanolamina, la esfingomielina, la fosfatidilserina y trazas de otros fosfolípidos.

La liberación de esos fosfolípidos trombogénicos en la sangre en los casos de hemólisis masiva puede dar lugar a un fenómeno de coagulación intravascular diseminada aguda. La fracción glicolípida es relativamente pequeña. “*MIALE; J. B., Hematología: Medicina de Laboratorio, 6ta Edición, Cap. XIII, Lípidos, Pág. 615, 1985*”

2.2.2 MEDIOS DE REACCIÓN ANTÍGENO ANTICUERPO

2.2.2.1 FACTORES QUE AFECTAN A LA REACCIÓN ANTÍGENO ANTICUERPO

Las reacciones antígeno-anticuerpo se estudian más fácilmente "in vitro" utilizando preparaciones de antígenos y antisueros. En las reacciones antígeno-anticuerpo se distinguen 2 fases: la primera consiste en la unión del antígeno con el anticuerpo y la segunda en las manifestaciones que resultan de dicha unión. La primera fase se realiza por la combinación de áreas pequeñas tanto del antígeno como del anticuerpo, denominadas respectivamente determinante antigénico y sitio activo, que al unirse forman un complejo antígeno-anticuerpo.

CONCENTRACIÓN DE ANTÍGENO Y ANTICUERPO

Aunque está muy relacionada, un exceso de anticuerpos podrá inhibir la aglutinación como en la precipitación en el efecto prozona de la curva de equivalencia. Una relación comúnmente usada es de dos gotas de suero

con una gota de eritrocitos resuspendidos a 2-3% en solución fisiológica. Por lo que el número de anticuerpos en el sistema y el número de sitios antigénicos por el eritrocito afectan la velocidad con que se lleva a cabo una reacción de aglutinación, viéndose que una relación de suero-célula aumentada puede detectar anticuerpos débilmente reactivos.

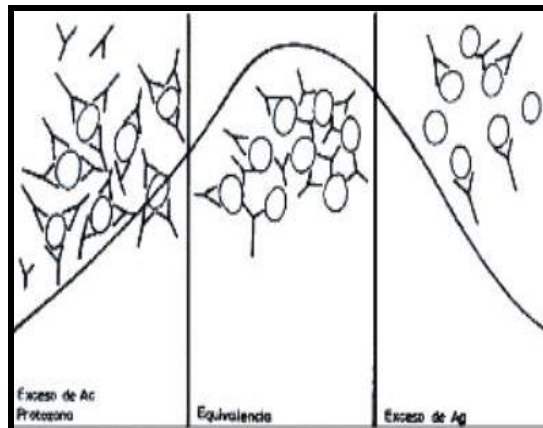


FIGURA N° 6: ANTÍGENOS Y ANTICUERPOS
FUENTE: <http://www.microinmuno.qb.fcen.uba.ar/seminarioinmunologia2.htm>

La velocidad de formación del complejo antígeno-anticuerpo varía con el número de moléculas de anticuerpo presentes en el medio y con el número de sitios antigénicos presentes en cada célula. Al aumentar la cantidad de anticuerpos en el medio puede aumentar la sensibilidad de la prueba, así mismo, al aumentar la proporción suero/eritrocitos se proveen más anticuerpos por zonas antigénicas.

PH

No existe un pH exacto óptimo, pero se dice que entre 6 - 7.3 se detecta la mayoría de los grupos sanguíneos clínicamente significativos, con excepciones como el anti Mel que actúan mejor a pH más bajos, notándose marcadamente el cambio de la especificidad de los anticuerpos en especial de los monoclonales. Uno de los puntos más importantes a observar es el almacenamiento de reactivos, entre los que

figura principalmente la solución salina isotónica, la cual después de un largo período de almacenamiento el pH cambia de 5.0 - 6.0.

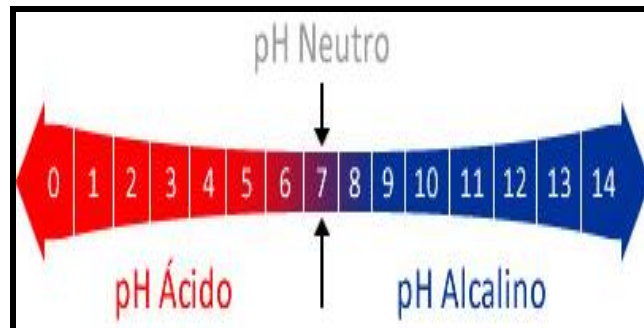


FIGURA N° 7: ESCALA PH
FUENTE: <http://minikken.files.wordpress.com/2011/10/ph.jpg>

El pH óptimo para los anticuerpos de la mayoría de los sistemas de grupos sanguíneos aún no ha sido determinado. Anticuerpos como los anti-M reaccionan mejor a pH bajo, y para los anti-D se reporta el pH óptimo entre 6,5 y 7,0. En la práctica las técnicas de rutina deben trabajarse a un pH alrededor de 7,0 - 7.5.

TEMPERATURA

La mayoría de los anticuerpos de grupos sanguíneos reaccionan en un rango restringido de temperatura. En general los anticuerpos IgM reaccionan a temperaturas de entre 4 - 27°C, mientras que los anticuerpos IgG reaccionan mejor a 37°C, es por eso que los procedimientos para la detección de anticuerpos pueden detectarse a diferentes temperaturas, se debe de tener cuidado además de clasificar los anticuerpos que son clínicamente significativos, a los que actúan a un amplio margen térmico, a los que fijan complemento.

Por este motivo, las técnicas de detección de anticuerpos abarcan gamas de temperaturas de 22 - 37 °C ó 30 - 37 °C. Aquellos anticuerpos que

reaccionan in vitro a temperaturas por debajo de 37 °C, no se consideran clínicamente significativos y rara vez destruyen eritrocitos transfundidos. Algunos anticuerpos de la clase IgM pueden activar el complemento a temperaturas por debajo de 30 °C, pero sólo acortan de forma mínima la supervivencia de eritrocitos incompatibles transfundidos. Los anticuerpos clínicamente significativos son aquellos que tienen actividad in vivo que se manifiesta in vitro al reaccionar a 37 °C.

FUERZA IÓNICA

Efecto de la baja fuerza iónica: se incrementa enormemente la velocidad de fijación del antígeno al correspondiente anticuerpo al disminuir la fuerza iónica. Así por ejemplo, la velocidad inicial de fijación de anti-D a los hematíes d-positivos se acrecienta 1000 veces al reducirse la fuerza iónica.

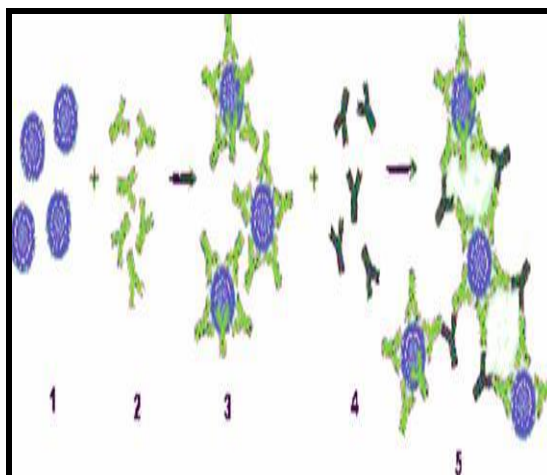


FIGURA N° 8: VELOCIDAD DE FIJACIÓN ANTÍGENO AL ANTICUERPO CORRESPONDIENTE
FUENTE: revista electrónica del depto. de química biológica,

Está directamente relacionada con el potencial z. En la solución salina normal, los iones de Na⁺ y Cl⁻ se reúnen alrededor de los antígenos y de los anticuerpos y neutralizan parcialmente cargas opuestas, esto impide la asociación del anticuerpo con el antígeno, pero puede disminuirse de

diferentes formas. Por lo que el resultado del efecto de eliminar, neutralizar o disminuir estas cargas ayuda a conseguir una constante de equilibrio mejor y a incrementar la velocidad de reacción. "BAUTISTA Juárez; Javier, Factores que intervienen en la reacción antígeno-anticuerpo Medicina Transfusional, Rev Med Inst Mex Seguro Soc 2005; Supl 1"

ESPECIFICIDAD

Capacidad del anticuerpo de unirse al antígeno que lo estimuló. La unión dada por la especificidad es muy precisa y permite distinguir entre grupos químicos con diferencias mínimas a pesar de su similitud., además permite detención de un solo Ag en cuestión. "FIORENTINO; Susana, La Inmunología en el diagnóstico clínico, 1era Edición, Cap. IV, Reacciones Antígeno – Anticuerpo, Págs. 73-75, 1994"

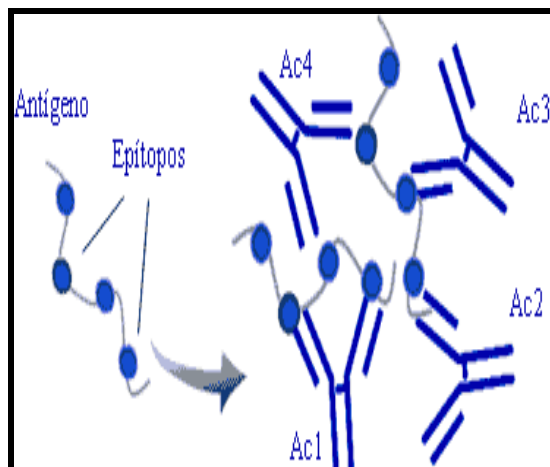


FIGURA N° 9: ESPECIFICIDAD DE LA INMUNOGLOBULINA G POR SU ANTÍGENO
FUENTE: /2011/12/sistema-inmunologico-2007.html

AVIDEZ TÍTULO DEL ANTISUERO (TÍTULO DE REACCIÓN)

Título es la dilución del antígeno en la última aglutinación observable.

Avidez es una propiedad del anticuerpo y se define por la fuerza de unión del mismo a un determinado antígeno. La avidéz de un anticuerpo por el

antígeno puede ser mayor o menor en función del número y de la naturaleza de las fuerzas de unión. Esta propiedad se refleja en la mayor o menor velocidad de combinación entre un antígeno y un anticuerpo. En la primera parte de inmunorreacción participan los anticuerpos con mayor avidéz.

El tipo de calidad del anticuerpo (policlonal o monoclonal) empleado también influye en la avidéz. Por otro lado, la velocidad de unión de un antígeno y un anticuerpo dependen de las características del antígeno. Es sumamente importante que se utilicen inmunosueros con anticuerpos que se dirijan contra el epítipo más repetido, y que éste no pueda ser modificado por las condiciones físicas del medio utilizado en la reacción. A veces, cuando el antígeno es polivalente (tiene varios epítipos), es necesario para que se provoque inmunoprecipitación que el inmunosuero esté constituido por una mezcla de anticuerpos dirigidos contra diferentes epítipos de la molécula antigénica. *“FUENTES; Arderiu, Bioquímica Clínica y Patología Molecular, Volumen I, 2da Edición, Cap. XXII, Inmunoprecipitación, Pág. 385, 1998”*

REVERSIBILIDAD

Dado que la reacción se debe a fuerzas no covalentes, es reversible y, en consecuencia, se ve afectada por factores como la temperatura, la proporción de Ag-Ac, el pH y la fuerza iónica. (<http://www.buenastareas.com/ensayos/Factores-Que-Afectan-La-Reacci%C3%B3n-Ant%C3%ADgeno-Anticuerpo/5264951.html>)

POTENCIAL IÓNICO DEL MEDIO

La superficie de los hematíes tiene cargas eléctricas negativas debidas a los carboxilos del ácido siálico (NANA) de la membrana. Si los hematíes están en suspensión en un medio que contiene iones libres, los cationes forman una envoltura de cargas positivas alrededor de aquellos

convirtiéndolos en partículas cargadas de electricidad del mismo signo que experimentan una fuerza de repulsión entre ellas. Esta fuerza de repulsión se denomina potencial Zeta.

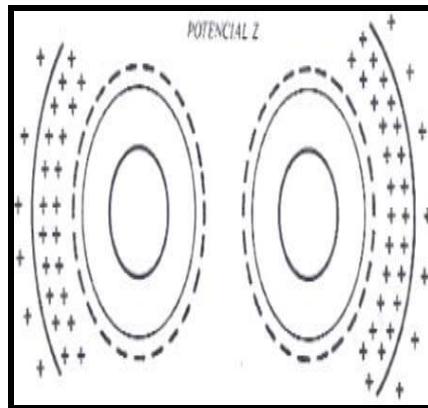


FIGURA N° 10: POTENCIAL ZETA

FUENTE: (<http://www.microinmuno.qb.fcen.uba.ar/seminarioinmunologia2.htm>)

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

Si bien la sensibilización aumenta cuando los glóbulos rojos están en suspensión salina de bajo potencial iónico, la aglutinación de estos glóbulos rojos sensibilizados se ve desfavorecida por un aumento del potencial Zeta.

Para aumentar la aglutinación, se debe separar a los eritrocitos de este medio, lavándolos con suero salino isotónico normal. La sensibilización de hematíes por anticuerpos de tipo IgG no puede producir aglutinación. La molécula de IgG es demasiado pequeña para unirse a más de un hematíe a no ser que se introduzca algún artificio.

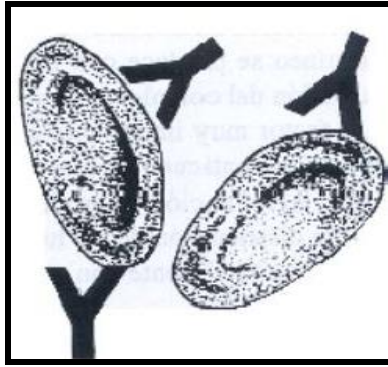


FIGURA N° 11: HEMATÍES SENSIBILIZADOS POR MOLÉCULAS DE IGG
FUENTE: <http://www.microinmuno.qb.fcen.uba.ar/seminarioinmunologia2.htm>

Fuerzas de Van der Waals, resultantes de la interacción entre nubes electrónicas y uniones hidrófobas. Son fuerzas débiles pero la suma de las mismas puede ser importante en las uniones antígeno/anticuerpo. Fuerzas electrostáticas procedentes de la atracción entre aminoácidos de cargas opuestas. (<http://www.microinmuno.qb.fcen.uba.ar/SeminarioInmunologia2.htm>)

2.2.2.2 MEDIOS DE REACCIÓN

SOLUCIÓN SALINA



IMAGEN N° 1: SOLUCIÓN SALINA
FUENTE: http://commons.wikimedia.org/wiki/file:iv1-07_014.jpg

Sustancia con una concentración de sólidos igual a la concentración interna de sólidos de la célula, la cual la concentración de soluto está en

igual equilibrio fuera y dentro de una célula. La solución que tiene la misma concentración de sales que el suero de la sangre son isotónicas. Por tanto, tienen la misma presión osmótica que la sangre y no producen la deformación de los glóbulos rojos.

Cuando se trabaja con glóbulos rojos, la solución salina debe tener un pH de 6.5- 7.5 por fuera de este rango, algunos anticuerpos se combinan con los antígenos y se obtienen resultados falsos negativos.

Si el pH es adecuado y la solución salina se usa en el día, no requiere buffer. Sin embargo, como la solución salina suele utilizarse en un lapso de 2 a 3 días y como el pH declinación el tiempo, preciso agregar sales amortiguadoras en forma de tabletas de pH 7 o un buffer apropiado.

([http://whqlibdoc.who.int/hq/1993/WHO_GPA_CNP_93.2D_\(part2\)_spa.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/1993/WHO_GPA_CNP_93.2D_(part2)_spa.pdf))

LISS



IMAGEN N° 2: LISS

FUENTE: <http://sangreycomponentes>

La carga de iones positivos y negativos que poseen es inferior a la que contiene la solución fisiológica normal, por ello, la interacción de los iones del medio dificulta menos las uniones antígeno/anticuerpo. Este medio de reacción aumenta la velocidad de asociación y captación entre Ag y Ac.

Para evitar el posible deterioro de algunos antígenos hemáticos debido al medio de baja fuerza iónica, es preciso seguir muy estrictamente las instrucciones que proporciona el fabricante de cada LISS aditivo. Utiliza un tiempo de incubación de 15 minutos, investiga Ac de tipo Ig G e Ig M.

Es utilizado para reducir la fuerza iónica del medio de reacción en los procedimientos de detección e identificación de anticuerpos y en las pruebas de compatibilidad. La presencia de este reactivo refuerza la interacción antígeno - anticuerpo durante la incubación.

ALBÚMINA BOVINA

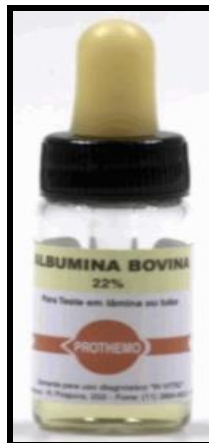


IMAGEN N° 3: ALBÚMINA BOVINA
FUENTE: www.prothemo.com.br

Albúmina bovina se utiliza principalmente para mejorar la reactividad de anticuerpos de grupo sanguíneo, ya sea en prueba de aglutinación directa o indirecta de prueba antiglobulina que puede ser utilizado en la detección cualitativa de anticuerpos, la identificación, la valoración y el control de la tipificación Rh.

En las técnicas de aglutinación, si el anticuerpo que participa en la reacción antígeno-anticuerpo es de la clase IgG, necesita el concurso de

otros agentes que faciliten su acercamiento al antígeno en los eritrocitos, estos agentes potenciadores de la aglutinación son las enzimas proteolíticas y la albúmina sérica bovina.

Los anticuerpos que no aglutinan eritrocitos suspendidos en solución salina, en ocasiones, los aglutinan cuando están suspendidos en albúmina bovina, esto es posible porque la albúmina provoca un incremento en la constante dieléctrica del medio en el que están suspendidos los eritrocitos y una disminución del potencial zeta. La constante dieléctrica de un medio es una medida de su habilidad para disipar cargas.

No todos los anticuerpos de los grupos sanguíneos aumentan su actividad en las pruebas de albúmina. Los anti-A, anti-B y anti-Lewis muestran reducción de su actividad en presencia de albúmina; este influye en el grado de hidratación de la membrana, lo cual puede alterar la orientación estérica del determinante antigénico o puede disminuir la entropía disponible para dirigir la reacción.

ENZIMAS PROTEOLÍTICAS: PAPAÍNA, FISCINA, TRIPSINA, BROMELINA

Los anticuerpos de grupo sanguíneo de tipo IgG pueden aglutinar los hematíes si éstos se tratan con soluciones taponadas de algunas enzimas proteolíticas. Las enzimas que se usan corrientemente en inmunohematología son: tripsina. Papaína y bromelina.

Las pruebas de investigación de anticuerpos mediante enzimas proteolíticas son muy sensibles para determinados anticuerpos pero tienden a dar resultados falsos positivos. La desventaja de este medio de

reacción es que destruye los Ag eritrocitarios porque reduce altamente el potencial Z, utiliza un tiempo de incubación de 5 minutos.

Se utilizan en las pruebas inmunohematológicas porque reducen la carga de la superficie de los eritrocitos al hidrolizar las sialoglicoproteínas de la superficie celular. La neuraminidasa también reduce la carga de la superficie celular porque escinde moléculas de ácido siálico N-acetilneuramínico (NeuNAc) de las cadenas de polisacáridos. Como se discutió anteriormente, cualquier mecanismo que elimine las cargas negativas de los eritrocitos reducirá la distancia que los separa al disminuir el potencial zeta y así facilitar su aglutinación por parte de anticuerpos de la clase IgG.

El tratamiento enzimático de eritrocitos también incrementa la accesibilidad de algunos antígenos cuando las glicoproteínas son eliminadas. Los eritrocitos pretratados con neuraminidasa aumentan su aglutinación por efecto de moléculas de IgG, pero este aumento no es comparable al producido por otras enzimas.

La tripsina, papaína y bromelina, catalizan el rompimiento hidrolítico de proteínas en los enlaces peptídicos. La glucación de algunas lisinas en las proteínas podría disminuir la actividad catalítica de estas enzimas. El cambio en las propiedades funcionales debido a la glucación de lisinas podría ser consecuencia de un cambio funcional en la proteína, que sin duda afecta las interacciones apropiadas, necesarias para el enlace y la actividad de la enzima. (http://bvs.sld.cu/revistas/hih/vol17_2_01/hih03201.pdf)

2.2.2.3 FACTORES QUE FAVORECEN A LA REACCIÓN ANTÍGENOS ANTICUERPOS RELACIONADA A LOS HEMATÍES

TEMPERATURA

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

PH

El pH óptimo de la mayoría de los anticuerpos de grupo sanguíneo es de 6.5 a 7.5 cuando el pH es demasiado ácido o demasiado alcalino, las reacciones se inhiben.

ANTIGÜEDAD DEL SUERO Y LOS ERITROCITOS

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

PROPORCIÓN ENTRE ANTICUERPOS Y ANTÍGENOS

La proporción entre anticuerpos y antígenos es importante: cuando mayor es la concentración de anticuerpos en relación con los antígenos eritrocitarios, más intensa es la reacción. Por lo tanto, la potencia de la suspensión de glóbulos rojos es esencial, porque si es excesiva podría enmascarar la presencia de anticuerpos débiles.

POTENCIA IÓNICA

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

SSBFI, el período de incubación de la prueba antiglobulínica se abrevia a 15 min. “JARAMILLO; Fernando, *La Práctica Transfusional y La Inmunohematología, Factores que afectan la reacción antígeno anticuerpo*, Pág. 28-29, 2010”

AGRUPACIÓN Y MOVILIDAD DE LOS ANTÍGENOS

La situación próxima de los antígenos en la membrana eritrocitaria facilita la aglutinación ya que supone un mayor número de probabilidades para la fijación del anticuerpo en el lugar antigénico determinado.

ESPONTANEIDAD

La reacción Ag-Ac se inicia y transcurre por sí misma, no requiere energía adicional para efectuarse.

2.2.2.4 FACTORES QUE FAVORECEN A LA REACCIÓN ANTÍGENOS ANTICUERPOS RELACIONADA AL SUERO O PLASMA

TEMPERATURA

Cada anticuerpo tiene su temperatura de reacción preferida. Por ejemplo, el Rh actúa mejor a 37 °C.

ANTIGÜEDAD DEL SUERO Y LOS ERITROCITOS

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

PROPORCIÓN ENTRE ANTICUERPOS Y ANTÍGENOS

La proporción entre anticuerpos y antígenos es importante: cuando mayor es la concentración de anticuerpos en relación con los antígenos eritrocitarios, más intensa es la reacción. Por lo tanto, la potencia de la suspensión de glóbulos rojos es esencial, porque si es excesiva podría enmascarar la presencia de anticuerpos débiles. Para las pruebas de aglutinación la cifra más adecuada es de 2-4 %.

CARACTERÍSTICAS DEL ANTICUERPO

La capacidad de un anticuerpo para aglutinar a los hematíes depende de la clase de inmunoglobulina a que pertenece. La molécula de IgM tiene mayor tamaño que la de IgG, siendo la más efectiva para producir aglutinación. A pesar de ello, la molécula de IgG puede ser modificada químicamente para aumentar su envergadura y mejorar su capacidad de aglutinación. Al aumentar la cantidad de anticuerpos en el medio puede aumentar la sensibilidad de la prueba, asimismo, al aumentar la proporción suero/eritrocitos se proveen más anticuerpos por zonas antigénicas. (<http://exa.unne.edu.ar/bioquimica/fisiologia.humana/APUNTE%20GS.pdf>)

PH

No existe un pH exacto óptimo, pero se dice que entre 6 - 7.3 se detecta la mayoría de los grupos sanguíneos clínicamente significativos, con excepciones como el anti Mel que actúan mejor a pH más bajos, notándose marcadamente el cambio de la especificidad de los anticuerpos en especial de los monoclonales. Uno de los puntos más importantes a observar es el almacenamiento de reactivos, entre los que

figura principalmente la solución salina isotónica, la cual después de un largo periodo de almacenamiento el pH cambia de 5.0 - 6.0.

El pH óptimo para los anticuerpos de la mayoría de los sistemas de grupos sanguíneos aún no ha sido determinado. Anticuerpos como los anti-M reaccionan mejor a pH bajo, y para los anti-D se reporta el pH óptimo entre 6,5 y 7,0. En la práctica las técnicas de rutina deben trabajarse a un pH alrededor de 7,0 - 7.5.

FUERZA IÓNICA

Efecto de la baja fuerza iónica: se incrementa enormemente la velocidad de fijación del antígeno al correspondiente anticuerpo al disminuir la fuerza iónica. Así por ejemplo, la velocidad inicial de fijación de anti-D a los hematíes d-positivos se acrecienta 1000 veces al reducirse la fuerza iónica.

Está directamente relacionada con el potencial z. En la solución salina normal, los iones de Na⁺ y Cl⁻ se reúnen alrededor de los antígenos y de los anticuerpos y neutralizan parcialmente cargas opuestas, esto impide la asociación del anticuerpo con el antígeno, pero puede disminuirse de diferentes formas. Por lo que el resultado del efecto de eliminar, neutralizar o disminuir estas cargas ayuda a conseguir una constante de equilibrio mejor y a incrementar la velocidad de reacción. *“BAUTISTA; Javier, Gac Méd Méx Vol. 140, Cap. II, Factores que intervienen en la reacción antígeno-anticuerpo, Pág., 28-29, 2004”*

AVIDEZ TÍTULO DEL ANTISUERO (TÍTULO DE REACCIÓN)

Avidez es una propiedad del anticuerpo y se define por la fuerza de unión del mismo a un determinado antígeno. La avidéz de un anticuerpo por el

antígeno puede ser mayor o menor en función del número y de la naturaleza de las fuerzas de unión.

Esta propiedad se refleja en la mayor o menor velocidad de combinación entre un antígeno y un anticuerpo. El tipo de calidad del anticuerpo (policlonal o monoclonal) empleado también influye en la avidéz. Por otro lado, la velocidad de unión de un antígeno y un anticuerpo dependen de las características del antígeno.

Es sumamente importante que se utilicen inmunosueros con anticuerpos que se dirijan contra el epítopo más repetido, y que éste no pueda ser modificado por las condiciones físicas del medio utilizado en la reacción. A veces, cuando el antígeno es polivalente (tiene varios epítomos), es necesario para que se provoque inmunoprecipitación que el inmunosuero esté constituido por una mezcla de anticuerpos dirigidos contra diferentes epítomos de la molécula antigénica. *“FUENTES; Arderiu, Bioquímica Clínica y Patología Molecular, Volumen I, 2da Edición, Cap. XXII, Inmunoprecipitación, Pág. 385, 1998”*

ESPONTANEIDAD

La reacción Ag-Ac se inicia y transcurre por si misma, no requiere energía adicional para efectuarse.

REVERSIBILIDAD

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

2.2.2.5 COMPOSICIÓN DE LOS REACTIVOS EMPLEADOS EN LA IDENTIFICACIÓN DE LOS ANTÍGENOS ERITROCITARIOS

COMPOSICIÓN DE LOS REACTIVOS DEL SISTEMA ABO: ANTI-A, ANTI-B, ANTI-AB



IMAGEN N° 4: REACTIVOS ANTI-A, ANTI-B, ANTI-AB
FUENTE: <http://www.grupobios.cl/productos/es>

REACTIVO	SIMILITUD	DIFERENCIA
ANTI – A	Componentes reactivos monoclonales anticuerpos de la clase IgM de inmunoglobulina.	El azul patente (Anti-A). Clon A003 (IgM).
ANTI – B	Se derivan de líneas celulares de hibridoma que son creados por la fusión anticuerpo de ratón producen linfocitos B con células de mieloma de ratón.	Tartrazin (Anti-B). Clon B005 (IgM).
ANTI – AB	Los anticuerpos se diluyeron en una solución tamponada que contiene proteína bovina albúmina, tetraacetato de etilendiamina (EDTA).	Clones 63/BS 85 (IgM / IgM)

TABLA N° 1: COMPOSICIÓN DE LOS REACTIVOS DEL SISTEMA ABO: ANTI-A, ANTI-B, ANTI-AB
FUENTE: <http://www.fda.gov/bloodvaccines/licensedproductsblas/81725.pdf>
DISEÑO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA

COMPOSICIÓN DE LOS REACTIVOS DE LECTINAS: ANTI-A1, ANTI-H



IMAGEN N° 5: REACTIVOS DE LECTINAS: ANTI-A1, ANTI-H
FUENTE: <http://www.grupomoscaro.com/>

REACTIVO	SIMILITUD	DIFERENCIA
ANTI-A1	<p>Contienen como elemento reactivo anticuerpos monoclonales de la clase de inmunoglobulina IgM.</p> <p>Estos anticuerpos se obtienen del sobrenadante del cultivo celular de líneas de hibridación celular que resultan de la fusión de linfocitos B de ratón productores de anticuerpos con células de mieloma de ratón.</p>	Clon A1
ANTI-H		Clones A46/B.B10

TABLA N° 2: COMPOSICIÓN DE LOS REACTIVOS DE LECTINAS: ANTI-A1, ANTI-H
FUENTE: <http://bmd.cdi.ch/pdf/tf-rg/801165/ifu5-186338.pdf>
DISEÑO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA

COMPOSICIÓN DEL REACTIVO ANTI-KELL



IMAGEN N° 6: REACTIVO ANTI-KELL

FUENTE: http://www.csl.com.au/s1/cs/auhq/1217017237558/web_product.com/

REACTIVO	COMPOSICIÓN	CÓDIGO
ANTI-KELL	Como el componente reactivo Seraclone Anti-K (KEL1) contiene un anticuerpo monoclonal humano de la clase de inmunoglobulina IgM. Es derivada de sobrenadante de cultivo celular y demuestra la constante especificidad y reproducibilidad característica para los anticuerpos monoclonales. Los anticuerpos se diluyeron en una solución tamponada que contiene proteína bovina albúmina y potenciadores macromoleculares.	clon MS56 (IgM)

TABLA N° 3: COMPOSICIÓN DEL REACTIVO ANTI-KELL

FUENTE:

[HTTP://WWW.CSL.COM.AU/S1/CS/AUHQ/1217017237558/WEB_PRODUCT_C/1196562752254/PRODUCT_DETAIL.HTM](http://www.csl.com.au/s1/cs/auhq/1217017237558/web_product_c/1196562752254/product_detail.htm)

DISEÑO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA

COMPOSICIÓN DEL REACTIVO ANTI-D

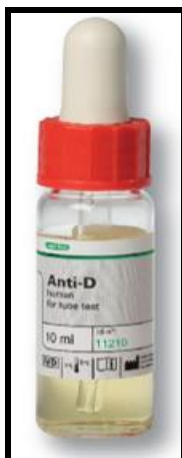


IMAGEN N° 7: REACTIVO ANTI - D

FUENTE: <http://www.bio-rad.com/prd/de/de/cdg/pdp/1o3bpnk4/anti-d>

REACTIVO	COMPOSICIÓN	CÓDIGO
ANTI-D	<p>NOVACLONE Anti-D IgM + IgG Mezcla Monoclonal se prepara a partir de Anti-D IgM y anti-D IgG.</p> <p>NOVACLONE Anti-D IgM + IgG Mezcla Monoclonal está hecho para utilizarse en pruebas en placa, tubo y microplaca y provee una prueba cualitativa específica para la detección del antígeno D correspondiente en células sanguíneas humanas.</p>	<p>IgM monoclonal humano (línea celular D175-2)</p> <p>IgG monoclonal humano (línea celular D415 1E4)</p>

TABLA N° 4: COMPOSICIÓN DEL REACTIVO ANTI-D

FUENTE:

([HTTP://PORTAL.LICON.MX/PERSONAL/LICON/INDEX.PHP?ACTION=APLICACION.CMS.GOTO_CARGA_R_PLANTILLA&PID=LICON&CMD=7:32\(\)|214:108\(27\)&EVE=&CID=9MRME9RFCO&SID=TWHYMCJN8PBT RT5UCAS16SMAOT2Q4N9SOVSPMGW](http://portal.licon.mx/personal/licon/index.php?action=aplicacion.cms.goto_carga_r_plantilla&pid=licon&cmd=7:32()|214:108(27)&eve=&cid=9MRME9RFCO&sid=TWHYMCJN8PBT RT5UCAS16SMAOT2Q4N9SOVSPMGW))

DISEÑO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA

COMPOSICIÓN DE LOS REACTIVOS DEL SISTEMA RH: ANTI-C, ANTI-E, ANTI-e, ANTI-c, ANTI-CDE



IMAGEN N° 8: REACTIVOS DEL SISTEMA RH: ANTI-C, ANTI-E, ANTI-E, ANTI-C
FUENTE: <http://www.grupomoscaro.com/>

REACTIVO	SIMILITUD	DIFERENCIA
ANTI-C	Contienen como componente reactivo anticuerpos monoclonales humanos de la clase de inmunoglobulina IgM. Estos anticuerpos se obtienen del sobrenadante de cultivos celulares y presentan la especificidad y reproducibilidad constantes que son propiedades bien conocidas de los anticuerpos monoclonales.	Clon MS24
ANTI-E		Clones MS258/906
ANTI-e		Clones MS16/MS21/MS63
ANTI-c		Clon MS33
ANTI-CDE		clon P3x25513G8 clon P3x61 clon P3x234

TABLA N° 5: COMPOSICIÓN DE LOS REACTIVOS DEL SISTEMA RH: ANTI-C, ANTI-E, ANTI-E, ANTI-C
FUENTE: <http://bmd.cdi.ch/pdf/tf-rg/802080/ifu5-187679.pdf>
DISEÑO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA

LISS



IMAGEN N° 9: REACTIVO LISS
FUENTE: <http://sangreycomponentes>

Solución de baja fuerza iónica. Conocida por sus siglas en inglés LISS, es una solución que contiene 0,003 M de cloruro de sodio en un tampón fosfato 0,003 M de fosfato dibásico de sodio y fosfato monobásico de sodio y 0,2M de glicina, de pH 6,7 a 22 ± 1 °C.

(<http://www.aathi.com.ar/pdfs/reactivosdeinmunohem.pdf>)

ANTIGLOBULINA HUMANA



IMAGEN N° 10: REACTIVO ANTIGLOBULINA HUMANA
FUENTE: <http://www.pfhlabmedic.com>

El reactivo de anti-globulina humana es una mezcla de anti-IgG humana policlonal y C3d monoclonal. El reactivo coloreado verde permite comprobar visualmente la adición del mismo a todos los tubos. Suero de

conejo anti-IgG humana purificada. Anticuerpo monoclonal anti-C3d (murino).

Tampón estabilizante. Azida sódica <0,1%. Colorantes: Patent Blue y Tartrazine. (http://www.linear.es/ficheros/archivos/804_34100-C.pdf)

ALBÚMINA BOVINA



IMAGEN N° 11: REACTIVO ALBÚMINA BOVINA
FUENTE: www.albis.com.pe

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

Parámetros muy importantes en la preparación de soluciones de albumina bovina son el pH, la concentración. Las soluciones de albumina bovina disminuye el potencial Z y, en consecuencia, la repulsión electrostática existe entre los hematíes, las concentraciones más empleadas: 30%, 22%, 6%, 3%. El tiempo de incubación es de 30 minutos a 37°C.

“JARAMILLO; Fernando, La Práctica Transfusional y La Inmunohematología, Medios de Reacción, Pág. 29-32, 2010”

2.2.3 ENSAYOS INMUNOHEMATOLÓGICOS BÁSICOS APLICADOS A LA IDENTIFICACIÓN DE ANTÍGENOS Y ANTICUERPOS DE LOS ERITROCITOS

2.2.3.1 TITIFICACIÓN SANGUÍNEA DIRECTA ABO

PRINCIPIO

Se enfrenta una gota de sangre entera del paciente con los reactivos compuesto por anticuerpos monoclonales dirigidos a los polisacáridos del GR y al factor Rh, Se utiliza anti-A, anti-B y anti-Rh. Un grupo sanguíneo es una forma de agrupar ciertas características de la sangre que dependen de los antígenos presentes en la superficie de los glóbulos rojos y en el suero de la sangre.

Esta ha sido la base para que se pueda clasificar a la sangre en cuatro grupos en cuanto al sistema ABO: grupo A, grupo AB, grupo B y grupo O; y en dos con respecto al sistema Rh: Rh negativo o Rh positivo. Las personas con sangre del tipo A tienen glóbulos rojos que expresan antígenos de tipo A en su superficie y anticuerpos contra los antígenos B en el suero de su sangre. Las personas con sangre del tipo B tienen la combinación contraria, glóbulos rojos con antígenos de tipo B en su superficie y anticuerpos contra los antígenos A en el suero de su sangre.

Los individuos con sangre del tipo O no expresan ninguna de los dos antígenos (A o B) en la superficie de sus glóbulos rojos pero pueden fabricar anticuerpos contra ambos tipos, mientras que las personas con tipo AB expresan ambos antígenos en su superficie y no fabrican ninguno de los dos anticuerpos.

FUNDAMENTO

Los antígenos de los hematíes son estructuras químicas que proporcionan propiedades específicas a su superficie y que solo pueden detectarse con anticuerpos que corresponden a esos antígenos la mayoría de estas reacciones antígeno-anticuerpo implican la aglutinación o hemólisis de los hematíes.

MATERIAL Y EQUIPO

- ✓ Gradilla
- ✓ Tubos de ensayo
- ✓ Pipetas Pasteur con bulbo
- ✓ Centrífuga clínica
- ✓ Centrífugas Serofuga
- ✓ Sueros hemoclasificadores Anti-A, Anti B. Anti-AB
- ✓ Albúmina bovina al 22% o 33%
- ✓ Solución fisiológica en Pizeta
- ✓ Sangre problema

TÉCNICA EN TUBO

PROCEDIMIENTO

- 1) Identificar tubos con las letras A-B-AB-D.
- 2) Colocar 50 ul o una gota de células en suspensión en cada tubo rotulado.

- 3) Agregar una1 de antisueros a cada tubo correspondiente.
- 4) Centrifugar a 3500 rpm por 20 segundos o 2700 rpm, durante 1 minuto.
- 5) Observa r la aglutinación y la intensidad de los mismos valiéndose de una lámpara de luz blanca o magnificador.
- 6) Anotar los resultados.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Es recomendable que la tipificación al realizarse, los resultados son más confiables tubo, ya que la aglutinación se puede expresar en cruces, de una a cuatro, dependiendo del grado de la misma.

- ✓ 4 cruces; la aglutinación se presentará como un botón sólido con fondo claro y grumos gruesos.
- ✓ 3 cruces; la aglutinación serán varios grumos grandes con el fondo claro o rosado.
- ✓ 2 cruces pocos grumos y muy pequeños, una suspensión uniforme.
- ✓ 1 cruz pocos grumos, muy pequeños, el fondo muy rosado.
- ✓ Negativo: Una suspensión uniforme de color rojo.

	Anti A	Anti-B	Anti AB
Grupo A	Positivo	Negativo	Positivo
Grupo B	Negativo	Positivo	Positivo
Grupo AB	Positivo	Positivo	Positivo
Grupo O	Negativo	Negativo	Negativo

TABLA N° 6: INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LA TIPIFICACIÓN DIRECTA
DISEÑO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA

DISCREPANCIAS

- ✓ Sobrecentrifugación de los tubos.
- ✓ Uso de reactivos, eritrocitos o solución salina contaminados.
- ✓ Uso de material de vidrio sucio.
- ✓ Autoaglutinación de los eritrocitos del paciente y realización sólo del grupo directo sin autotestigo.
- ✓ Interpretación o registros incorrectos de los resultados de las pruebas.
- ✓ Incorrecto lavado de células.

FALSOS POSITIVOS

- ✓ Contaminación de los materiales empleados en la prueba.
- ✓ Temperatura incorrecta de incubación.
- ✓ Reducción del tiempo de incubación recomendado.
- ✓ Neonatos: los antígenos A y B no se encuentran totalmente expresados en el recién nacido. Por esta razón deben extremarse los cuidados, sobre todo en los prematuros. (http://www.wiener-lab.com.ar/wiener/catalogo/archivos/6427_anti_a_anti_b_anti_ab_monoclonal_sp.pdf)

FALSOS NEGATIVOS

- ✓ Mala preparación de la suspensión de glóbulos rojos (exceso de glóbulos rojos puede absorber la aglutinina del suero y no evidenciar la aglutinación).
- ✓ Si se ha colocado poca sangre escasos de glóbulos dificultará la lectura macroscópicamente.

- ✓ Los reactivos vencidos, conservados a temperaturas inadecuadas, contaminados.
- ✓ Utilización de sangres viejas o contaminadas.
- ✓ Centrifugación inadecuada en tiempo y/o revoluciones.
- ✓ Si se emplea la técnica en tubo, una agitación excesiva puede disgregar las aglutinaciones débiles y producir resultados falso-negativos.

2.2.3.2 TIPIFICACIÓN SANGUÍNEA INVERSA ABO

PRINCIPIO

Identifica los anticuerpos anti-A o Anti-B (también llamados isoaglutininas) presentes en el suero o plasma de la muestra, los cuales reaccionan específicamente con eritrocitos conocidos "A" o "B". La presencia de aglutinación indica la presencia de anticuerpos anti-A (si aglutina el tubo A) o anticuerpos anti-B (si aglutina el tubo B). El grupo sanguíneo será "A" si sólo aglutina en el tubo B; grupo sanguíneo "B" si sólo aglutina en el tubo A; "O" si aglutina en ambos y "AB" si no se encuentra aglutinación en alguno de los tubos.

FUNDAMENTO

El suero del paciente que contiene anticuerpos se ponen en contacto con eritrocitos determinados que contienen antígenos formando un complejo antígeno – anticuerpo, que se manifiesta mediante una aglutinación.

MATERIAL Y EQUIPO

- ✓ Tubos de ensayo de 12 x 75.
- ✓ Pipetas automáticas.
- ✓ Gradilla.
- ✓ Centrífuga
- ✓ Eritrocitos con antígenos conocidos A₁, A₂, B y O
- ✓ Tubo Vacutainer con muestra sanguínea sin anticoagulante.

TÉCNICA EN TUBO

PROCEDIMIENTO

- 1) Identificar tubos con las letras A-B-O.
- 2) Colocar 100 ul o dos gotas del suero reactivo o en estudio.
- 3) Agregar 1 gota de las células A-B-O en cada tubo correspondiente (células A en el tubo rotulado con A...etc).
- 4) Centrifugar a 3500 rpm por 20 segundos o 2700 rpm, durante 1 minuto.
- 5) Observar la aglutinación y la intensidad de los mismos valiéndose de una lámpara de luz blanca y/o magnificador.
- 6) Anotar los resultados.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Es recomendable que la tipificación al realizarse, los resultados son más confiables tubo, ya que la aglutinación se puede expresar en cruces, de una a cuatro, dependiendo del grado de la misma.

- ✓ 4 cruces; la aglutinación se presentará como un botón sólido con fondo claro y grumos gruesos.
- ✓ 3 cruces; la aglutinación serán varios grumos grandes con el fondo claro o rosado.
- ✓ 2 cruces pocos grumos y muy pequeños, una suspensión uniforme.
- ✓ 1 cruz pocos grumos, muy pequeños, el fondo muy rosado.
- ✓ Negativo: Una suspensión uniforme de color rojo.

	Células A	Células B	Células O
Grupo A	Negativo	Positivo	Negativo
Grupo B	Positivo	Negativo	Negativo
Grupo AB	Negativo	Negativo	Negativo
Grupo O	Positivo	Positivo	Negativo

TABLA N° 7: INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LA TIPIFICACIÓN INDIRECTA
DISEÑO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA

DISCREPANCIAS

- ✓ Sobrecentrifugación de los tubos.
- ✓ Uso de reactivos, eritrocitos o solución salina contaminados.
- ✓ Autoaglutinación de los eritrocitos del paciente y realización sólo del grupo directo sin autotestigo.
- ✓ Interpretación o registros incorrectos de los resultados de las pruebas.
- ✓ Incorrecto lavado de células.

FALSOS POSITIVOS

- ✓ Presencia anómala de macroglobulinas

- ✓ Presencia de coágulos de fibrina
- ✓ Centrifugación excesiva

FALSOS NEGATIVOS

- ✓ No agregado del reactivo
- ✓ Falta de temperatura adecuada
- ✓ Escasa centrifugación
- ✓ Concentración baja de proteínas (RN, ancianos, plasmaféresis reciente, inmunodeficiencia, etc.)
- ✓ Interpretación de la hemólisis como resultado negativo.

(<http://www.hemobaires.org.ar/pdfs/Discrepancias%20ABO%20-%201-06-2010%20-%20Dra%20Marcela%20Garcia%20Rosasco.pdf>)

2.2.3.3 TITIFICACIÓN RH FENOTIPOS MAYORES Y MENORES

PRINCIPIO

La prueba se basa en la capacidad del suero del individuo de aglutinar o hemolizar células cuya composición antigénica es conocida en cuanto a los antígenos más importantes en inmunohematología.

FUNDAMENTO

El factor Rho. es un antígeno que se encuentra en la membrana del eritrocito el cual reacciona con su Anticuerpo correspondiente que se encuentra en el suero anti-D que contiene la aglutinina correspondiente al factor Rho, llamado también anti Rho, anticuerpos que se detectan, son

del tipo de la IgG que poseen la capacidad de cruzar la barrera placentaria por su bajo peso molecular, iniciando por tanto la enfermedad. La presencia del factor Rho se pone de manifiesto mediante una reacción antígeno-anticuerpo y se observa por aglutinación y hemólisis.

MATERIAL Y EQUIPO

- ✓ Tubos de ensayo
- ✓ Anti sueros (ANTI-D, ANTI-C, ANTI-E, ANTI-c, ANTI-e,)
- ✓ Células lavadas y suspendidas.
- ✓ Centrífuga
- ✓ Lámpara de luz blanca.
- ✓ Gradilla

TÉCNICA EN TUBO

PROCEDIMIENTO

- 1) Rotular TUBOS con la letra D, C, E, c, e, es preciso a cada letra acompañarle del código numérico que se asignado.
- 2) Colocar una gota de antisuero Anti-D, una gota de Anti-C, Anti-E, Anti-c, Anti-e en cada tubo limpio y rotulado respectivamente.
- 3) Colocar a cada tubo 50ul de las células lavadas y suspendidas.
- 4) Homogenizar antes de dispensar a cada tubo, tener cuidado de no maltratar las células ya que podrían hemolizarse.
- 5) Mezclar suavemente el contenido de los tubos y centrifugar 15 segundos a 3500 r.p.m.

- 6) Examinar los tubos en busca de hemólisis. Posible reacción inmunológica que puede padecer el paciente, no se da siempre este fenómeno.
- 7) Resuspender suavemente el botón celular y examinar buscando aglutinación. No golpear los tubos esto podría ocasionar destrucción del aglutinado.
- 8) Anotar los resultados de la prueba.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- ✓ Si la sangre examinada Rho. Positiva se nota la formación grumos fácilmente observables a simple vista.
- ✓ En caso de ser Rho. Negativo el aspecto es homogéneo, no existe aglutinación

DISCREPANCIAS

- ✓ Sobrecentrifugación de los tubos.
- ✓ Uso de reactivos, eritrocitos o solución salina contaminados.
- ✓ Uso de material de vidrio sucio.
- ✓ Autoaglutinación de los eritrocitos del paciente y realización sólo del grupo directo sin autotestigo.
- ✓ Interpretación o registros incorrectos de los resultados de las pruebas.
- ✓ Incorrecto lavado de células.

FALSOS POSITIVOS

- ✓ Exceso de temperatura

- ✓ Restos de fibrina
- ✓ Agregación
- ✓ Exceso de tiempo (> 2 min)

FALSOS NEGATIVOS

- ✓ Falta de temperatura
- ✓ Falta de agregado del reactivo
- ✓ Falta de tiempo (lectura e interpretación en los primeros segundos)

2.2.3.4 PRUEBAS DE COOMBS DIRECTA

PRINCIPIO

La prueba de antiglobulina (Prueba de Coombs) es un procedimiento importante para la detección de inmunoglobulinas y/o complemento unidos a los glóbulos rojos. La prueba de antiglobulina directa es utilizada para demostrar los anticuerpos y/o complemento unido a células rojas in-vivo y la prueba de antiglobulina indirecta se utiliza, después de la incubación del suero y las células rojas, para demostrar la presencia de anticuerpos y/o complemento unido in-vitro.

FUNDAMENTO

El examen de Coombs directo se utiliza para detectar Autoanticuerpos contra los propios glóbulos rojos de un individuo. es una prueba que sirve para demostrar el revestimiento de los eritrocitos in vivo. La prueba se

realiza agregando directamente el reactivo de Coombs a los eritrocitos, previamente lavados para eliminar otras proteínas no fijadas a él, una prueba directa positiva significa que la relación antígeno - anticuerpo ocurrió in vivo, es decir que la fijación del anticuerpo sobre el antígeno se realizó en el organismo del individuo en estudio.

Las indicaciones principales de esta prueba son: diagnóstico de enfermedades hemolíticas, ictericia o anomalías en la apariencia de los glóbulos rojos bajo el microscopio, ya que estos anticuerpos algunas veces destruyen los glóbulos rojos y causan anemia y obviamente para investigar reacciones transfusionales.

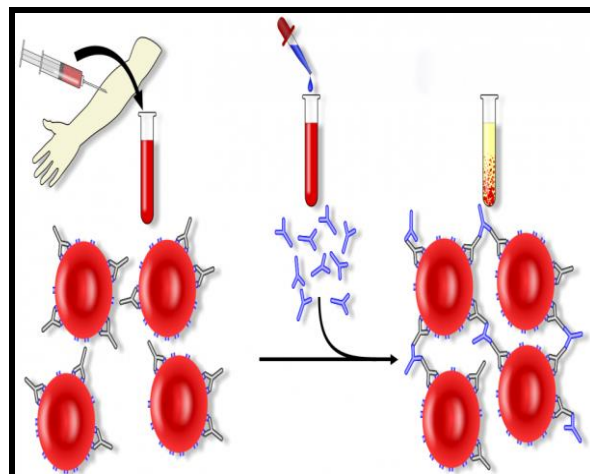


FIGURA N° 12: PRUEBA DE COOMBS DIRECTO
FUENTE: <http://adolfofonda.com/serie-roja/>

MATERIAL Y EQUIPO

- ✓ Tubos de ensayo
- ✓ Pipetas automáticas
- ✓ Gradillas
- ✓ Centrifuga
- ✓ Lámpara

- ✓ Antiglobulina Humana
- ✓ Células lavadas y suspendidas.

TÉCNICAS EN TUBO

PROCEDIMIENTO

- 1) Lavar 3 veces las células.
- 2) Se llena el tubo hasta cerca del borde con Solución Salina.
- 3) Centrifugar (1minuto a 3500 rpm)
- 4) Decantamos (volvemos a repetir el paso 2,3,4)
- 5) Rotular 2 tubos (Se hará por duplicado).
- 6) Añadir 50 ul de células lavadas y suspendidas.
- 7) Poner 2 gota de Anti globulina Humana. (homogenizar)
- 8) Centrifugar 3500 rpm por 15 segundos
- 9) Agitar suavemente y leer (si los resultados son negativos)
- 10) Poner 1 gota de Control de Coombs.
- 11) Centrifugar 3500 r.p.m por 15 segundos
- 12) Agitar suavemente y leer (Si vuelve a dar negativo, la prueba no es válida).

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- ✓ La aglutinación en el tubo testigo no debe existir.
- ✓ Si el tubo problema presenta aglutinación, los glóbulos rojos están sensibilizados por algún anticuerpo incompleto.

USOS

Para el diagnóstico de:

- ✓ Eritroblastosis fetal
- ✓ Anemia hemolítica
- ✓ Reacciones hemolíticas postransfusionales por sangre incompatible

DISCREPANCIAS

- ✓ Sobrecentrifugación de los tubos.
- ✓ Uso de reactivos, eritrocitos o solución salina contaminados.
- ✓ Uso de material de vidrio sucio.
- ✓ Autoaglutinación de los eritrocitos del paciente y realización sólo del grupo directo sin autotestigo.
- ✓ Interpretación o registros incorrectos de los resultados de las pruebas.
- ✓ Incorrecto lavado de células.

2.2.3.5 PRUEBA DE COOMBS INDIRECTA

PRINCIPIO

La prueba de antiglobulina (Prueba de Coombs) es un procedimiento importante para la detección de inmunoglobulinas y/o complemento unidos a los glóbulos rojos. La prueba de antiglobulina directa es utilizada para demostrar los anticuerpos y/o complemento unido a células rojas in-vivo y la prueba de antiglobulina indirecta se utiliza, después de la incubación del suero y las células rojas, para demostrar la presencia de anticuerpos y/o complemento unido in-vitro.

FUNDAMENTO

El test de coombs indirecto tiene como fundamento demostrar la presencia de anticuerpos fijados a la membrana del hematíe. Para ello se incuban hematíes con antisueros antigammaglobulinas total (suero coombs) con lo que se consigue que la unión de las antigammaglobulinas a los anticuerpos y/o complemento fijados al hematíe de lugar a una interconexión y, en consecuencia, a la aglutinación de los hematíes portadores de anticuerpos.

Si se realiza la prueba con anticuerpos específicos para cada una de las inmunoglobulinas y frente al complemento se podrá determinar qué tipo de anticuerpo es el que se ha fijado al hematíe y si lo está el complemento.

Mediante el test de coombs indirecto se investiga la presencia de anticuerpos circulantes. Por ello precisa de una fase previa en la que se procura su unión a una muestra de hematíes. Se emplea para detectar la sensibilización de los hematíes in vitro. Presenta varios usos, entre ellos:

- ✓ Detectar la presencia de anticuerpos en el plasma del paciente.
- ✓ Determinar el fenotipo de los vasos sanguíneos
- ✓ Pruebas cruzadas
- ✓ Identificar la especificidad de los anticuerpos causantes de una anemia hemolítica.

De forma genérica podemos decir que consiste en sensibilizar a propósitos los hematíes de un paciente para ver si pueden quedar sensibilizados, es decir, si existen anticuerpos en el suero problema o no.

La prueba de coombs indirecta, se hace incubando una muestra del suero del paciente con eritrocitos Rh + de cualquier persona sana. En el caso de que el suero del paciente contuviera anticuerpos anti-D, estos podrían interaccionar con los eritrocitos Rh+ provocando su aglutinación o más frecuentemente su sensibilización. En este último caso la adición del suero de coombs conduciría a la aglutinación de los eritrocitos sensibilizados.

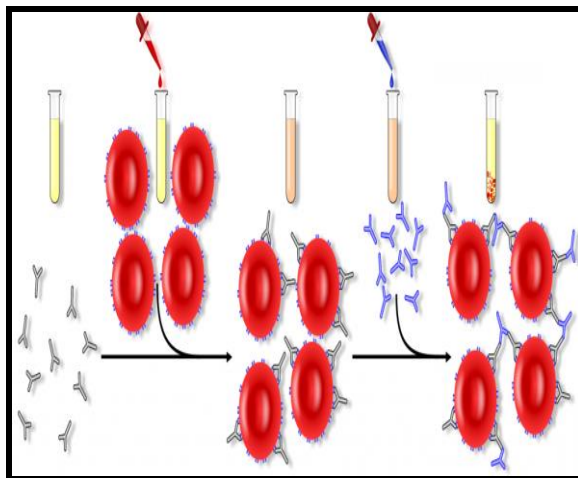


FIGURA N° 13: PRUEBA DE COOMBS INDIRECTO
FUENTE: [HTTP://ADOLFONEDA.COM/SERIE-ROJA/](http://adolfoneda.com/serie-roja/)

MATERIAL Y EQUIPO

- ✓ Tubos de ensayo
- ✓ Pipetas automáticas
- ✓ Gradillas
- ✓ Centrifuga
- ✓ Lámpara
- ✓ Antiglobulina Humana
- ✓ Células lavadas y suspendidas.
- ✓ Baño María

TÉCNICAS EN TUBO

PROCEDIMIENTO

- 1) En tubo poner 2 gotas del suero problema y una gota de glóbulos rojos sensibilizados, suspendidos en solución salina al 5%, si se investigan anticuerpos Rh se usan glóbulos rojos tipo "O" Rh positivos.
- 2) Se incuba a 37°C por una hora, se centrifuga el tubo a baja velocidad 2500 rpm por 1 minuto.
- 3) Se lavan los glóbulos rojos sensibilizados tres veces con solución salina, desechando el sobrenadante completamente en el último lavado, dejando solo el botón de eritrocitos en el fondo.
- 4) Agregar dos gotas de suero de Coombs, mezclar perfectamente y poner en baño María a 37°C, durante 5 minutos,
- 5) Centrifugar a baja velocidad 2500 rpm y buscar aglutinación en el fondo del tubo.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- ✓ Si se encontró aglutinación después del paso número 2, indica la presencia de aglutininas anti Rh en el suero problema.
- ✓ Si la prueba es negativa, se puede presumir la existencia de anticuerpos incompletos o bloqueadores, y se comprueba prosiguiendo con la técnica.
- ✓ Se puede realizar diluciones del suero problema para conocer el título de aglutininas anti-Rh que existen en el paciente. *"ESCOBAR; José Bernardo, Manual de Prácticas de Inmunohematología, Cap. III, Manual de Prácticas Clínicas, Pág. 14, 1993"*

USOS

Para el diagnóstico de:

- ✓ Eritroblastosis fetal
- ✓ Anemia hemolítica
- ✓ Reacciones hemolíticas postransfusionales por sangre incompatible.

DISCREPANCIAS

- ✓ Sobrecentrifugación de los tubos.
- ✓ Uso de reactivos, eritrocitos o solución salina contaminados.
- ✓ Uso de material de vidrio sucio.
- ✓ Autoaglutinación de los eritrocitos del paciente y realización sólo del grupo directo sin autotestigo.
- ✓ Interpretación o registros incorrectos de los resultados de las pruebas.
- ✓ Incorrecto lavado de células.

2.2.3.6 PRUEBAS DE COMPATIBILIDAD

PRUEBA CRUZADA MAYOR

PRINCIPIO

Para la prueba cruzada mayor, la muestra a obtener para los ensayos in vitro es suero del receptor (obtención de sangre entera sin anticoagulantes). La mayoría de los anticoagulantes actúan quelando el Ca^{++} , incapacitándolo para participar en la activación del complemento.

Una vez determinado el grupo ABO y Rh de un individuo a ser transfundido, se selecciona la unidad de sangre de grupo y Rh compatible

y se procede a efectuar las pruebas de compatibilidad. "GARIBAY; Adriana, *Manual de Prácticas de Inmunología, Cap. II, Inmunoematología, Pág. 50, 2006*"

FUNDAMENTO

En la prueba cruzada mayor, los glóbulos rojos del donante se mezclan con el suero del receptor y se incuban a 37 °C durante 30 – 60 minutos. Luego se lavan los hematíes para eliminar las inmunoglobulinas que no han sido fijadas por los glóbulos rojos y se añade antiglobulina.

La existencia de aglutinación indica que algún anticuerpo del suero del receptor se ha unido a los glóbulos rojos del donante. Entonces se dice que la prueba cruzada es incompatible. Si no existe aglutinación significa que no hay aloanticuerpos eritrocitarios en el suero del receptor y se considera compatible la prueba cruzada. Todas las pruebas de antiglobulina negativas deben ser comprobadas para asegurar que el sistema de la prueba funciona adecuadamente. Para ello se añaden hematíes (previamente sensibilizados y lavados) a todos los tubos que dieron negativo. Si la prueba se hizo correctamente y es realmente negativa, los hematíes control deben ser aglutinados. Si no se produce aglutinación, la prueba no es válida y debe repetirse. "DUEÑAS; Víctor Hugo, *EL BANCO DE SANGRE, 2^{da} Edición, Cap. VI, Las Pruebas Cruzadas, Pág.151, 2003*"

UTILIDAD

- ✓ Detectar anticuerpos en el suero del receptor que estén dirigidos contra antígenos presentes en los eritrocitos del donante.

MATERIAL Y EQUIPO

- ✓ Tubos De Vidrio 12x75mm.
- ✓ Pipetas pasteur.
- ✓ Centrífuga
- ✓ Baño María
- ✓ Lámpara de luz blanca
- ✓ Albumina bovina 22% o LISS.
- ✓ Suero de coombs
- ✓ Células control de coombs (sensibilización con IgG)
- ✓ Solución salina en Pizeta

TÉCNICA EN TUBO

PROCEDIMIENTO

FASE 1. SALINA

- 1) Preparar una suspensión de glóbulos rojos del donante (paquete globular).
- 2) Rotular con PC.
- 3) Colocar 2 gotas de suero problema.
- 4) Colocar 1 gota de glóbulos rojos suspendidos del donante.
- 5) Mezclar y centrifugar los tubos a 3500 r.p.m. durante 15 segundos.
- 6) Observar la presencia de hemólisis y/o aglutinación.
- 7) Hacer la lectura por cruces y anotar los resultados.

FASE II: LISS O TÉRMICA

- 1) Agregar 2 gotas de albúmina bovina al 22% o Liss al tubo.
- 2) Mezclar, centrifugar a 3500 r.p.m. durante 15 segundos
- 3) Leer la hemólisis y/o aglutinación. Hacer la lectura por cruces y anotar los resultados.
- 4) Incubar en baño maría a 37° C durante 30 minutos (albúmina) o 15 minutos (Liss).
- 5) Mezclar, centrifugar a 3500 r.p.m. durante 15 segundos
- 6) Leer la hemólisis y/o aglutinación. Hacer la lectura por cruces y anotar los resultados.

FASE III: COOMBS O ANTIGLOBULÍNICA.

- 1) Lavar 3 veces con solución salina fisiológica al 0.9%.
- 2) Se llena el tubo hasta cerca el borde con solución salina 0.9%. se centrifuga a 3500 r.p.m. durante un minuto.
- 3) Se decanta todo. Se adiciona 1 a 2 gotas de solución salina, se re suspende el botón, se vuelve a llenar y se repite el paso anterior.
- 4) Agregar dos gotas de Antiglobulina humana, mezclar, centrifugar (3500 r.p.m. por 15 segundos) y leer.
- 5) Los resultados negativos deben ser comprobados con la célula control de Coombs.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- ✓ Aglutinación en cualquiera de las pruebas mayores no será necesario proseguir con los siguientes pasos, pues demuestra incompatibilidad.

USOS

- ✓ Evitar la transfusión de sangre incompatible

DISCREPANCIAS

- ✓ Sobrecentrifugación de los tubos.
- ✓ Uso de reactivos, eritrocitos o solución salina contaminados.
- ✓ Uso de material de vidrio sucio.
- ✓ Autoaglutinación de los eritrocitos del paciente y realización sólo del grupo directo sin autotestigo.
- ✓ Interpretación o registros incorrectos de los resultados de las pruebas.

PRUEBA CRUZADA MENOR

PRINCIPIO

Detectar anticuerpos IgM de carácter aglutinante o hemolizante que fijan complemento, por lo que se debe trabajar con sangre recién extraída y coagulada. Investigar Anticuerpos IgG que por su naturaleza no producen aglutinación y se deben utilizar distintos “medios” que permitan demostrar su presencia, produciendo aglutinación o hemólisis.

FUNDAMENTO

El suero del donador y las células del receptor y es útil como control de la tipificación ABO y una indicación de la posibilidad de reacciones transfusionales provocadas por un raro antígeno presente en las células del receptor o por anticuerpos infrecuentes dirigidos contra un antígeno en el suero del donador.

UTILIDAD

- ✓ Detectar anticuerpos en el suero del receptor que estén dirigidos contra antígenos presentes en los eritrocitos del donante.

MATERIAL Y EQUIPO

- ✓ Tubos De Vidrio 12x75mm.
- ✓ Pipetas pasteur.
- ✓ Centrifuga
- ✓ Baño María
- ✓ Lámpara de luz blanca.
- ✓ Albumina bovina 22% o liss.
- ✓ Suero de coombs
- ✓ Células control de coombs (sensibilización con IgG)
- ✓ Gradilla
- ✓ Solución salina en Pizeta

TÉCNICA EN TUBO

PROCEDIMIENTO

FASE 1. SALINA

- 1) Preparar una suspensión de glóbulos rojos del receptor.
- 2) Rotular con PC.
- 3) Colocar 2 gotas de suero donante.

- 4) Colocar 1 gota de glóbulos rojos suspendidos del receptor.
- 5) Mezclar y centrifugar los tubos a 3500 r.p.m. durante 15 segundos.
- 6) Observar la presencia de hemólisis y/o aglutinación.
- 7) Hacer la lectura por cruces y anotar los resultados.

FASE II: LISS O TÉRMICA

- 1) Agregar 2 gotas de albúmina bovina al 22% o Liss al tubo.
- 2) Mezclar, centrifugar a 3500 r.p.m. durante 15 segundos
- 3) Leer la hemólisis y/o aglutinación. Hacer la lectura por cruces y anotar los resultados.
- 4) Incubar en baño maría a 37° C durante 30 minutos (albúmina) o 15 minutos (Liss).
- 5) Mezclar, centrifugar a 3500 r.p.m. durante 15 segundos
- 6) Leer la hemólisis y/o aglutinación. Hacer la lectura por cruces y anotar los resultados.

FASE III: COOMBS O ANTIGLOBULÍNICA

- 1) Lavar 3 veces con solución salina fisiológica al 0.9%.
- 2) Se llena el tubo hasta cerca el borde con solución salina 0.9%. se centrifuga a 3500 r.p.m. durante un minuto.
- 3) Se decanta todo. Se adiciona 1 a 2 gotas de solución salina, se re suspende el botón, se vuelve a llenar y se repite el paso anterior.
- 4) Agregar dos gotas de Antiglobulina humana, mezclar, centrifugar (3500 r.p.m. por 15 segundos) y leer.
- 5) Los resultados negativos deben ser comprobados con la célula control de Coombs.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- ✓ Aglutinación en cualquiera de las pruebas mayores no será necesario proseguir con los siguientes pasos, pues demuestra incompatibilidad.

USOS

- ✓ Evitar la transfusión de sangre incompatible

DISCREPANCIAS

- ✓ Sobrecentrifugación de los tubos.
- ✓ Uso de reactivos, eritrocitos o solución salina contaminados.
- ✓ Uso de material de vidrio sucio.
- ✓ Autoaglutinación de los eritrocitos del paciente y realización sólo del grupo directo sin autotestigo.
- ✓ Interpretación o registros incorrectos de los resultados de las pruebas.
- ✓ Incorrecto lavado de células.

2.2.4 CALIDAD DE LOS ANTISUEROS Y MEDIOS DE REACCIÓN APLICADOS EN PRUEBAS INMUNOHEMATOLÓGICAS

2.2.4.1 CALIBRACIÓN DE CENTRÍFUGAS

La velocidad de centrifuga se expresa en r.p.m y la fuerza centrífuga que genera se expresa en fuerza centrífuga relativa.

Los rotores o cabezales de la centrífuga deben mantenerse limpios y libres de residuos que pueden suponer un foco de contaminación de las muestras y de desequilibrio del eje de giro.

Para el correcto uso de la centrífuga hemos de tener en cuenta una serie de aspectos:

- ✓ Usar tubos resistentes que no se rompan en el proceso. Poner un amortiguador en el fondo del adaptador como antichoque y para evitar que el sobrenadante puede ser movido. Tener cuidado que no sobresalga el tubo del portatubos, ya que puede impedir la oscilación en las centrífugas de cabezal oscilante. Limpieza periódica, o tras rotura de algún tubo, de la cámara y los contenedores para impedir la posible propagación de agentes infecciosos.
- ✓ Equilibrado de la centrifuga. Se colocará el material de igual peso en posición opuesta dentro de la centrífuga, para evitar las descompensaciones del rotor y consiguiente deterioro del eje.
- ✓ Tapar los recipientes para evitar la evaporación de que pueda causar el aumento de la temperatura que se produce en el interior de la cámara debido al rozamiento.
- ✓ No forzar nunca el paro de la centrífuga, pues mezclaríamos de nuevo las dos partes ya separadas, y además evitaremos el peligro de accidente.
- ✓ Chequeo de la velocidad de centrifugación cada cierto tiempo para comprobar el correcto funcionamiento. Esta operación se realizara cada tres mediante un tacómetro externo de conocida exactitud.
- ✓ El temporizador de de la centrífuga debe ser chequeado cada semana frente a un temporizador de referencia. *“GARCÍA; María José, Manual del Técnico Superior de Laboratorio de Análisis Clínicos, 1ra Edición, Cap. XII, Mantenimiento de Equipos, Pág. 219,220, 2004”*

MATERIALES

- ✓ Centrifuga
- ✓ Tacómetro
- ✓ 6 tubos de 10 x 75
- ✓ Albúmina
- ✓ Antiglobulina humana
- ✓ Antisueros A, B, AB y Rh
- ✓ Glóbulos rojos Rh positivos y negativos

TÉCNICA

PROCEDIMIENTO

1. Montar tubos de 10 x 75 agregando los reactivos como se indica en el siguiente cuadro:

Medios	Anticuerpos	Células	Control
Salino	anti A	"A"	"O" o "B"

2. Centrifugar a tiempo y revoluciones variables de 15" a un minuto, y de 1000 a 3500 revoluciones.
3. Observar el tubo después de cada centrifugación anotando la fuerza de aglutinación, resuspendiendo lentamente el botón de células.
4. Observar minuciosamente los controles, que deben ser negativos.
5. Observar el tiempo óptimo de centrifugación para cada medio.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- ✓ Numerar las centrífugas (con código de inventario) anotando el tiempo y r.p.m. óptimos de centrifugación para cada prueba.
- ✓ Realizar un registro que permita conocer si el funcionamiento de la centrífuga es o no adecuado. *“ESCOBAR; José Bernardo, Manual de Prácticas de Inmunohematología, Cap. III, Manual de Prácticas Clínicas, Pág. 20, 1993”*

2.2.4.2 PREPARACIÓN DE CÉLULAS ABO

Es importante eliminar por completo todas las proteínas plasmáticas, el lavado de células debe iniciarse inmediatamente después de la toma de muestra para evitar la pérdida de los anticuerpos de los hematíes.

PROCEDIMIENTO

- 1) Obtener la muestra de sangre a analizar.
- 2) Centrifugar la sangre total durante 10 minutos a 3500 r.p.m.
- 3) Retirar el sobrenadante (incluida la capa de glóbulos blancos).
- 4) Con una pipeta retiramos 1 ml de las células a lavar y las colocamos en un tubo de ensayo.
- 5) Con una piseta llenamos las 3 cuartas partes del tubo que contiene las células con solución salina isotónica.
- 6) Centrifugar durante 1 minuto a 3500 r.p.m.
- 7) Decantar el sobrenadante.
- 8) Repetimos los pasos 5 - 6 y 7 (2 veces más).

9) Con la pipeta tomamos 50 ul de las células lavadas obtenidas y las colocamos en un tubo de ensayo.

10) Añadir 950 ul de solución salina isotónica de esta manera obtenemos una suspensión 1/20.

2.2.4.3 PREPARACIÓN DE CÉLULAS CONTROL - COOMBS

Las células control de Coombs y las células control de Coombs (fuerte) son células rojas humanas sensibilizadas con IgG Grupo O Rhesus D-positivo, que han sido sensibilizadas in vitro con diferentes cantidades de anticuerpos anti-D (IgG).

Las células control de Coombs han sido preparadas para producir una aglutinación menos fuerte en la presencia de reactivos activos de antiglobulina. Las células control de Coombs (fuerte) han sido preparadas para producir una fuerte aglutinación en la presencia de reactivos activos de antiglobulina. Las células control de Coombs moderadamente sensibilizadas con IgG muestran una indicación más sensible y fiable de la neutralización (parcial) de los reactivos de antiglobulina. Las células control de Coombs son lavadas y resuspendidas en un medio conservante especial y pueden ser añadidas directamente a los tubos de ensayo.

MATERIAL Y REACTIVO

- ✓ Tubos de ensayo
- ✓ Incubadora
- ✓ Centrífuga

- ✓ Solución Salina Isotónica
- ✓ Suero testigo anti-Rh(D)
- ✓ Eritrocitos grupo O positivo
- ✓ Gradilla
- ✓ Pipetas automáticas
- ✓ Frascos con gotero limpio

PROCEDIMIENTO

- 1) Se obtendrá sangre venosa sin anticoagulante O Rh (+) y se centrifugara 5 minutos a 3500rpm.
- 2) El paquete celular se lavara 3 veces con SSF, llenando el tubo al máximo posible y centrifugando durante 1 minuto a 3500rpm.
- 3) Preparar una solución del suero testigo anti Rh(D), diluyendo 0.1 mL de suero con 0.3 mL de albumina.
- 4) En un tubo de ensayo deposite partes iguales de eritrocitos y de suero diluido. Mezcle por inversión varias veces.
- 5) Incube la mezcla a 37 °C durante 30 minutos.
- 6) Lave las células 3 veces con solución salina llenando al máximo en cada lavado.
- 7) Resuspenda los eritrocitos al 5% en Solución Salina para utilizarlos como células reactivas de control de la prueba de antiglobulina humana.

Nota.- Estas células tienen una vigencia de 7 días al cabo de los cuales se deberán preparar nuevas células. “*RESTREPO; Ricardo, Rehabilitación en salud, 2da Edición, Capítulo VI, Células Control Coombs, Págs. 674-676*”

2.2.4.4 VALORACIÓN DE LA AVIDEZ DE ANTISUEROS: Anti-A, Anti-B, Anti-AB, Anti-D, Anti-C, Anti-c, Anti-E, Anti-e, Anti-CDE

ANTISUERO	INTENSIDAD DE REACCIÓN	DILUCIÓN
Anti A	4 +	1 /32
Anti H lectina	4 +	1 /32
Anti A1 lectina	4 +	1 /32
Anti B	4 +	1 /32
Anti AB	4 +	1 /32
Anti D	4 +	1 /32
Anti C	4 +	1 /32
Anti c	4 +	1 /32
Anti E	4 +	1 /32
Anti e	4 +	1 /32
Anti CDE	4 +	1 /32

**TABLA N° 8: AVIDEZ DE LOS ANTISUEROS
DISEÑO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA**

2.2.4.5 VALIDACIÓN DE MEDIOS DE REACCIÓN

MEDIO DE REACCIÓN	INTENSIDAD DE REACCIÓN	DILUCIÓN	TIEMPO DE INCUBACIÓN	TIEMPO DE INCUBACIÓN	
				AUMENTADO	DISMINUIDO
LISS	4 +	1 /32	15 mint.	Falsos Negativos	Falsos Positivos
ALBÚMINA BOVINA	4 +	1 /32	30 mint.		
SUERO DE COOMBS	4 +	1 /32	-	-	-

TABLA N° 9: VALIDACIÓN DE MEDIOS DE REACCIÓN
DISEÑO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA

2.3 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

- ✓ **Aféresis:** método para obtener uno o más componentes de la sangre mediante el procesamiento mecánico de la sangre del donante, al que se devuelve, durante el proceso o al final del mismo, el resto de los componentes.
- ✓ **Anticuerpo clínicamente significativo:** anticuerpo capaz de acortar la vida de los hematíes.
- ✓ **Aseguramiento de la calidad:** todas las actividades realizadas desde la extracción de sangre hasta la distribución para garantizar que la sangre y los componentes sanguíneos tengan la calidad exigida para su uso previsto.

- ✓ **Auditoría:** proceso sistemático, independiente y documentado para determinar si las actividades auditadas y sus resultados satisfacen las disposiciones previamente establecidas. Es un instrumento para la comprobación de que el trabajo se realiza de acuerdo a la política, protocolos y procedimientos requeridos.
- ✓ **Avidez:** Es el tiempo que media entre la mezcla del reactivo con los eritrocitos y la aparición de la aglutinación.
- ✓ **Auditoría interna:** auditoría de calidad en la que los auditores son personal autorizado del centro.
- ✓ **Autorización:** reconocimiento administrativo por las comunidades autónomas de que el centro o servicio de transfusión dispone de los recursos humanos y materiales para el desarrollo de la actividad propuesta.
- ✓ **Autorización sanitaria:** Resolución administrativa que, según los requisitos que se establezcan, faculta a un centro, servicio o establecimiento sanitario
- ✓ **Agglutinación:** Proceso por el cual los glóbulos rojos se unen y ligan entre sí.
- ✓ **Alloinmunización:** Respuesta inmune en la cual en presencia de antígenos extraños, el organismo produce anticuerpos.
- ✓ **Anticuerpo:** Proteína protectora producida por la respuesta inmune de un individuo estimulado por una sustancia extraña generalmente proteica. Actúa en la defensa contra los patógenos, a menudo por neutralización o identificación de un agente que debe ser eliminado.
- ✓ **Anticuerpo natural:** Anticuerpo que aparece en el torrente sanguíneo en ausencia de estimulación antigénica conocida.
- ✓ **Antígeno:** Cualquier sustancia reconocida por el organismo como extraña, que estimula una respuesta inmune.

- ✓ **Equimolares:** Es una mezcla de dos o más sustancias que se encuentran presentes en la misma cantidad de moles.
- ✓ **Especificidad:** La capacidad del producto para identificar correctamente las muestras carentes del antígeno en cuestión.
- ✓ **Hemoderivados:** Los productos obtenidos mediante procesos industriales para aplicación terapéutica, diagnóstica, preventiva o en investigación.
- ✓ **Hemolisina:** Anticuerpo que se combina con el complemento y destruye (hemoliza) los glóbulos rojos portadores del antígeno correspondiente.
- ✓ **Hemólisis:** Destrucción (lisis) de la membrana eritrocitaria que libera el contenido: hem y globina. Resulta de la reacción entre un anticuerpo hemolítico y el antígeno eritrocitario correspondiente, en presencia de complemento.
- ✓ **Identificación de anticuerpos:** Proceso diseñado para conocer la especificidad de uno o varios anticuerpos.
- ✓ **Monoclonales:** Son aquellos diagnosticadores obtenidos a partir de hibridomas secretores de anti-cuerpos monoclonales.
- ✓ **Policlonales:** Son aquellos diagnosticadores obtenidos por inmunización a humanos o a animales con antígenos de los grupos sanguíneos.
- ✓ **Prueba de antiglobulina humana (prueba de Coombs):** ensayo de aglutinación en el que se emplean anticuerpos contra la gama globulina humana, que permite demostrar la presencia o ausencia de anticuerpos adheridos a un antígeno de la membrana del eritrocito.
- ✓ **Prueba de Coombs directo (o Coombs directo):** análisis que permite identificar anticuerpos, complemento o ambos, adheridos a la

membrana del eritrocito o a otras células, mediante el uso de anticuerpos contra la gama globulina humana (suero de Coombs).

- ✓ **Reactivo de antiglobulina humana (Coombs):** Producto empleado para la detección de globulinas humanas adheridas a los eritrocitos y a otras células humanas. El poliespecífico, también detecta actividad de complemento humano (C3d y C3b).
- ✓ **Tetrámero:** Toda estructura compuesta por cuatro partes, como una proteína formada por cuatro subunidades polipeptídicas.
- ✓ **Unidad:** volumen de sangre o componente sanguíneo obtenido para uso terapéutico, de un solo donante, en una sesión de extracción, en una bolsa o recipiente que contenga anticoagulante adecuado, suficiente, estéril y carente de pirógenos.

2.4 HIPÓTESIS Y VARIABLES

2.4.1 HIPÓTESIS

Con la evaluación de la titulación de la intensidad de reacción, se puede valorar la calidad del antisuero y medios de reacción que serán utilizado para la realización de las pruebas inmunohematológicas.

2.4.2 COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS

“La titulación de la intensidad de reacción permite valorar la fuerza de reacción que tienen los antisueros y medios de reacción para detectar un Ag o Ac específico, garantizando la calidad de los medios de reacción usados y la confiabilidad de los resultados”

Tomando en cuenta las tablas 8 y 9 se puede evidenciar mediante la titulación de la intensidad de reacción realizada a los Reactivos monoclonales, policlonales, a medios de reacción Liss, Albúmina Bovina, Suero de Coombs, son los adecuados para la utilización en la aplicación de las técnicas ya que se obtuvo una intensidad de reacción 3 cruces hasta la dilución 1/32 y 1/16 lo que garantiza la calidad de los ensayos inmunohematológicos y la confiabilidad de los resultados.

2.4.3 VARIABLES

VARIABLE INDEPENDIENTE

Titulación de la intensidad de reacción.

VARIABLE DEPENDIENTE

Selectividad de la calidad de antisueros y medios de reacción

2.5 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	CONCEPTO	CATEGORÍA	INDICADORES	INSTRUMENTO
<p>Independiente:</p> <p>Titulación de la intensidad de reacción.</p>	<p>Manifestación macroscópica de la reactividad antígeno anticuerpo.</p>	<p>Calidad de antisueños y medios de reacción.</p>	<p>1, 2, 3, 4 cruces de reacción</p>	<p>Guía de observación</p>
<p>Dependiente:</p> <p>Selectividad de la calidad de antisueños y medios de reacción.</p>	<p>Selección del medio de reacción, o antisueños, para emplearlos en las pruebas inmunohematológicas.</p>	<p>Calidad de antisueños y medios de reacción.</p>	<p>Reacción hemolítica</p>	<p>Guía de observación</p>

CAPÍTULO III

3 MARCO METODOLÓGICO

3.1 MÉTODO CIENTÍFICO

En la presente investigación se utiliza el método deductivo – inductivo con un procedimiento analítico, sintético y explicativo, con el fin de lograr los objetivos investigativos.

MÉTODO DEDUCTIVO- INDUCTIVO: Utilizamos este método ya que nos ayudó al estudio de cada uno de los ensayos, para obtener resultados generales de las pruebas realizadas llegando a conclusiones particulares sobre la selectividad de la calidad de antisueros y medios de reacción, empleados en la realización de las pruebas inmunohematológicas, mediante la titulación de la intensidad de reacción, al enfrentarlos con muestras de sangre y plasma de los hemoderivados.

LA APLICACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO: Porque nos permitió aplicar las técnicas en las diferentes muestras obtenidas de los usuarios atendidos en el Laboratorio de Inmunohematología del Servicio de Medicina Transfusional del Hospital General Docente de Riobamba.

LA UTILIZACIÓN DEL MÉTODO SINTÉTICO: Porque nos permitió unificar todos los conceptos más relevantes en cuanto a la titulación de la intensidad de la reacción que nos permitió validar las técnicas de

Tipificación Sanguínea, Coombs y Pruebas de Compatibilidad detalladas en el presente trabajo; con la finalidad de formular la teoría.

CON LA APLICACIÓN DEL MÉTODO EXPLICATIVO: Porque mediante la aplicación del método explicativo determinamos los factores que pueden alterar la intensidad de reacción dando como resultados falsos positivos y falsos negativos en las pruebas realizadas, para de esta manera evitar cometer errores al momento de la aplicación de las técnicas.

TIPO DE INVESTIGACIÓN

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

DESCRIPTIVA: Porque una vez que se realiza el primer estudio profundo de la problemática a investigarse describimos que al no poner en práctica las técnicas de una manera adecuada los resultados no serán confiables ya que obtendremos falsos positivos y falsos negativos.

EXPLICATIVA: Nos permite dar a conocer las diferentes variaciones que causan cambios en los resultados ayudando a establecer nuevas condiciones que permitan obtener resultados confiables; tomando como base los procedimientos obtenidos mediante la recopilación de textos, libros, folletos y revistas estableciendo las posibles alteraciones en las técnicas aplicadas.

DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

Esta investigación fue de campo cuasi-experimental

DE CAMPO: Debido a que el proceso investigativo se llevó a cabo en un lugar específico como en el Laboratorio de Inmunohematología del Área de Medicina Transfusional del Hospital General Docente de Riobamba.

CUASI-EXPERIMENTAL: Porque tomaremos como inicio las técnicas de Tipificación Sanguínea, Coombs y Pruebas de Compatibilidad ya establecidas en el Área de Medicina Transfusional, y haremos variaciones en su aplicación con la finalidad de obtener resultados confiables, mediante la colocación de un medio de reacción Ag - Ac.

3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

3.2.1 POBLACIÓN

La presente investigación está constituida por 250 ensayos que se realizaron durante el período Noviembre 2012 – Abril 2013.

3.2.2 MUESTRA

En vista de que nuestra población no es muy extensa trabajamos con todos los involucrados a quienes se les aplicó los diferentes instrumentos de investigación sobre el fenómeno o problema investigado.

3.3 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

TÉCNICAS

Observación

Análisis documental.

Recopilación bibliográfica

INSTRUMENTOS

GUÍA DE OBSERVACIÓN: Datos de los resultados de las muestras obtenidas en el Hospital General Docente de Riobamba.

3.4 ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

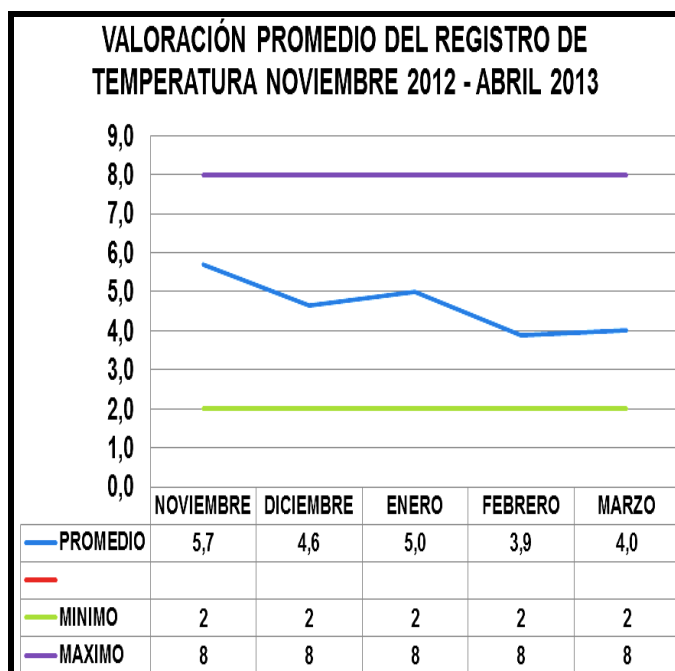
Métodos de tabulación que utilizamos en programación, previo a la obtención de investigación, los mismos que se utilizaron para los procesos estadísticos indicados.

TABLA ESTADÍSTICA N° 1: Valoración Promedio del Registro de Temperatura Noviembre 2012 – Abril 2013

MES	PROMEDIO	MÍNIMO	MÁXIMO
NOVIEMBRE	5,7	2	8
DICIEMBRE	4,6	2	8
ENERO	5,0	2	8
FEBRERO	3,9	2	8
MARZO	4,0	2	8
ABRIL	4,4	2	8

FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL SERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA

GRÁFICA DE LA TABLA ESTADÍSTICA N° 1: Valoración Promedio del Registro de Temperatura Noviembre 2012 – Abril 2013



FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL SERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA

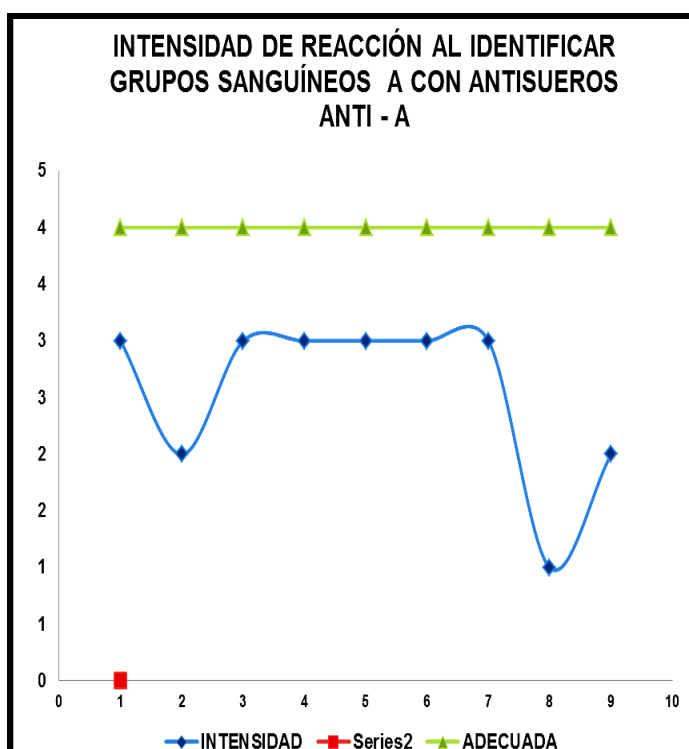
INTERPRETACIÓN.- Se procedió al registro de temperaturas en grados centígrados de la refrigeradora destinada a la conservación de los reactivos y medios de reacción empleadas para las pruebas inmunohematológicas, el promedio general de temperatura es de 4,6 grados centígrados, lo que indica que se ha conservado a las temperaturas adecuadas los reactivos para mantener su poder de reacción, el valor promedio mínimo es de 2 grados centígrados y máximo de 8 grados centígrados.

TABLA ESTADÍSTICA N° 2: Intensidad de Reacción con Anti - A Monoclonal

ENSAYOS	INTENSIDAD	ADECUADA
1	3	4
2	2	4
3	3	4
4	3	4
5	3	4
6	3	4
7	3	4
8	1	4
9	2	4

FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA

GRÁFICA DE LA TABLA ESTADÍSTICA N° 2: Intensidad de Reacción con Anti - A Monoclonal



FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA

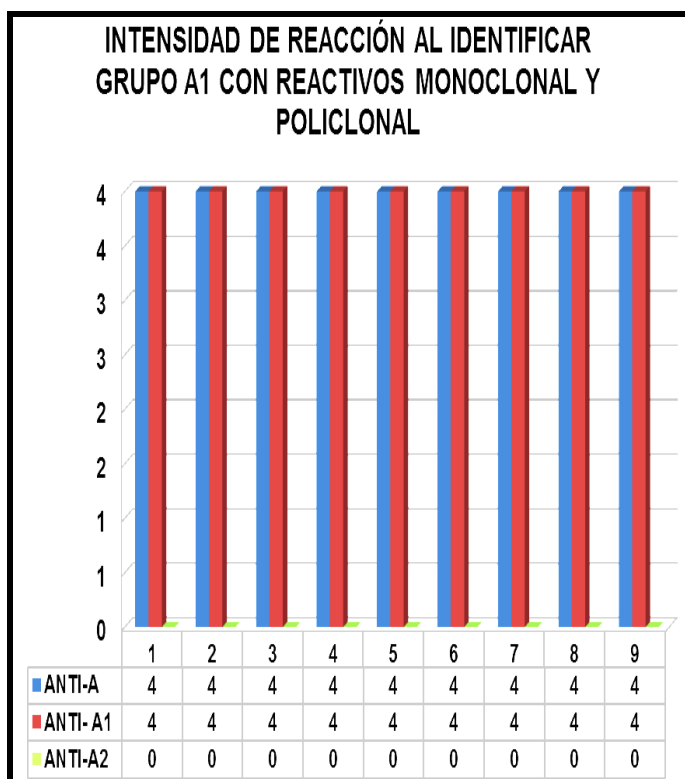
INTERPRETACIÓN.- Se identifican 9 grupos sanguíneos A, la intensidad de reacción varia de 2 hasta 3 cruces de intensidad, el reactivo empleado es monoclonal, lo que limita la apreciación de la intensidad de reacción por consiguiente se afecta la interpretación de resultados.

TABLA ESTADÍSTICA N° 3: Intensidad de Reacción con Anti - A Policlonal y Monoclonal

ENSAYOS	ANTI-A	ANTI- A1	ANTI-A2	RESULTADO
1	4	4	0	A1
2	4	4	0	A1
3	4	4	0	A1
4	4	4	0	A1
5	4	4	0	A1
6	4	4	0	A1
7	4	4	0	A1
8	4	4	0	A1
9	4	4	0	A1

FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL SERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA

GRÁFICA DE LA TABLA ESTADÍSTICA N° 3: Intensidad de Reacción con Anti - A Policlonal y Monoclonal



FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL SERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA

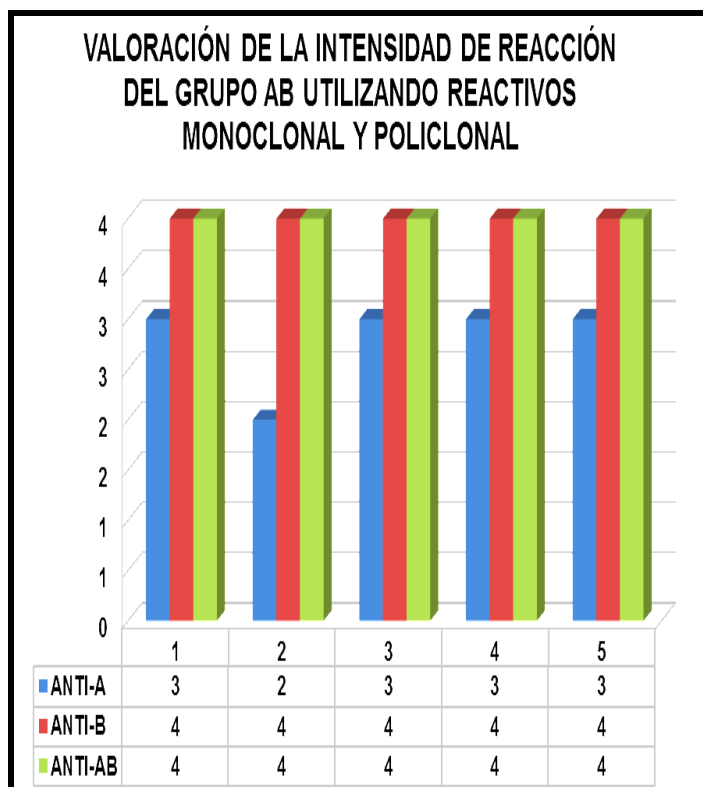
INTERPRETACIÓN.- La comparación de los reactivos monoclonales y policlonales utilizados en la tipificación sanguínea, mejoran la intensidad de reacción, al identificar 9 grupos sanguíneos A1, para comprobación de la intensidad de reacción se ha empleado Lectina A que es monoclonal, se verifica de que se ha identificado grupos A1 que contienen carga antigénica total.

TABLA ESTADÍSTICA N° 4: Valoración de la Intensidad de Reacción del Grupo AB utilizando Reactivos Monoclonal y Policlonal

ENSAYOS	ANTI-A	ANTI-B	ANTI-AB
1	3	4	4
2	2	4	4
3	3	4	4
4	3	4	4
5	3	4	4

FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA

GRÁFICA DE LA TABLA ESTADÍSTICA N° 4: Valoración de la Intensidad de Reacción del Grupo AB Utilizando Reactivos Monoclonal y Policlonal



FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA

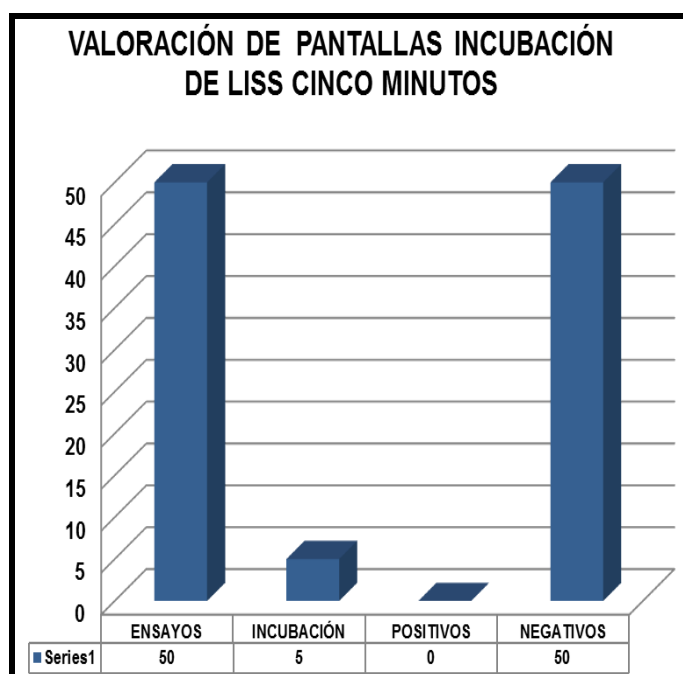
INTERPRETACIÓN.- En los ensayos que se identifican 5 grupos sanguíneos AB, se observa la diferencia de la intensidad de reacción obtenida, se emplea el reactivo monoclonal para identificar al antígeno A y un reactivo policlonal (Anti-AB), para control de los antígenos A y B, en este se observa una titulación de 4 cruces de intensidad de reacción a diferencia del reactivo Anti - A con variaciones de reacción.

TABLA ESTADÍSTICA N° 5: Valoración de Pantallas Incubación de Liss Cinco Minutos

ENSAYOS	INCUBACIÓN	POSITIVOS	NEGATIVOS
50	5	0	50

FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL SERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA

GRÁFICA DE LA TABLA ESTADÍSTICA N° 5: Valoración de Pantallas Incubación de Liss Cinco Minutos



FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL SERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA

TABLA ESTADÍSTICA N° 6: Valoración de Pantallas Incubación de Liss Quince Minutos

ENSAYOS	INCUBACIÓN	POSITIVOS	NEGATIVOS
50	15	5	45

FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL SERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA

**GRÁFICA DE LA TABLA ESTADÍSTICA N° 6: Valoración de Pantallas
Incubación de Liss Quince Minutos**



*FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL
DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA*

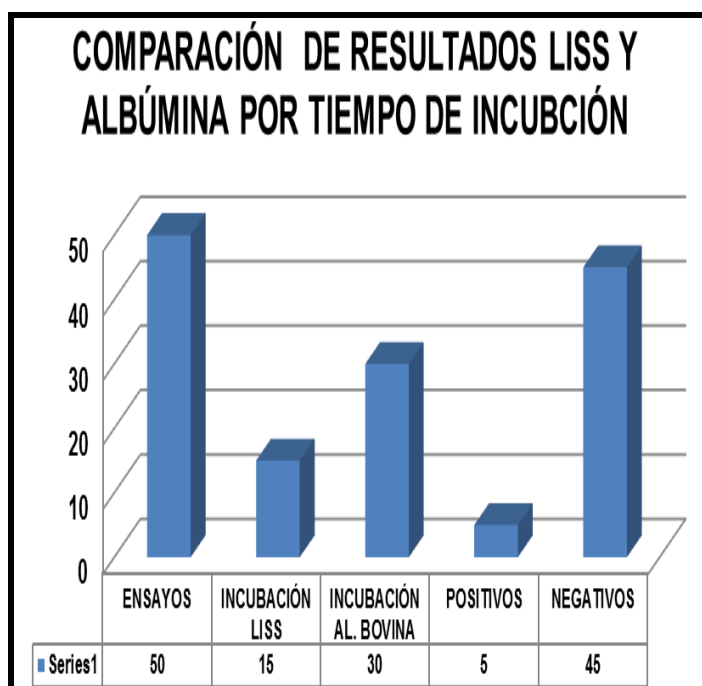
INTERPRETACIÓN.- se realiza en total 100 ensayos empleando la misma muestra, con la misma solución de baja fuerza iónica y el mismo suero de coombs, en los primeros 50 ensayos la incubación fue de 5 minutos, la interpretación final fue resultado para identificación de antisueros negativos en su totalidad. Se repite los mismos 50 ensayos que se realiza incubando 15 minutos reglamentación que exige la técnica, resultados negativos 45 y positivos 5. En despachos de sangre o pruebas de sangre urgente, limitar el tiempo de incubación genera pruebas falsas negativas.

TABLA ESTADÍSTICA N° 7: Valoración de Pantallas Incubación con Albúmina Bovina Treinta Minutos

ENSAYOS	INCUBACIÓN LISS	INCUBACIÓN AL. BOVINA	POSITIVOS	NEGATIVOS
50	15	30	5	45

FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL SERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA

GRÁFICA DE LA TABLA ESTADÍSTICA N° 7: Comparación de Resultados Liss y Albúmina por Tiempo de Incubación



FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL SERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA

INTERPRETACIÓN.- Los ensayos realizados con medios de reacción Albúmina Bovina y LISS no denotan cambios en sus resultados negativos ni positivos, se aprecia el tiempo de incubación con LISS 15 minutos y con Albúmina 30 minutos, en despachos de emergencia, no resulta conveniente prolongar el tiempo en la entrega de hemoderivados, por ello la albúmina no se lo emplearía.

TABLA ESTADÍSTICA N° 8: Dilución del Reactivo Anti-CDE Potenciado con Liss

TUBOS	1	2	3	4	5	6	7	8	CONTROL
LISS	2 GOTAS	2 GOTAS	2 GOTAS	2 GOTAS	2 GOTAS	2 GOTAS	2 GOTAS	2 GOTAS	2 GOTAS
ANTI-CDE	2 GOTAS	DILUCION	DILUCION	DILUCION	DILUCION	DILUCION	DILUCION	DILUCION	
	1.1	1.2	1.4	1.8	1.16	1.32	1.64	0:00	
MUESTRA	1 GOTA	1 GOTA	1 GOTA	1 GOTA	1 GOTA	1 GOTA	1 GOTA	1 GOTA	1 GOTA
15 MINUTOS	15 MINUTOS	15 MINUTOS	15 MINUTOS	15 MINUTOS	15 MINUTOS	15 MINUTOS	15 MINUTOS	15 MINUTOS	15 MINUTOS
CENTRIFUGAR 20 SEGUNDOS 3500 rpm	CENTRIFUGAR 20 SEGUNDOS 3500 rpm	CENTRIFUGAR 20 SEGUNDOS 3500 rpm	CENTRIFUGAR 20 SEGUNDOS 3500 rpm	CENTRIFUGAR 20 SEGUNDOS 3500 rpm	CENTRIFUGAR 20 SEGUNDOS 3500 rpm	CENTRIFUGAR 20 SEGUNDOS 3500 rpm	CENTRIFUGAR 20 SEGUNDOS 3500 rpm	CENTRIFUGAR 20 SEGUNDOS 3500 rpm	CENTRIFUGAR 20 SEGUNDOS 3500 rpm

FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL SERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA

INTERPRETACIÓN.- La dilución del reactivo anti-CDE potenciado con Liss y muestra de hematíes lavados y suspendidos, se los hace para medir el grado de sensibilidad del reactivo, esto permite evaluar la sensibilidad del reactivo, para que pueda reaccionar cuando en la muestra se encuentre el antígeno en estudio aún si está en bajas concentraciones, evitando generar reportes falsos negativos RH. La reacción óptima es 3 cruces hasta la dilución 1 en 32.

TABLA ESTADÍSTICA N° 9: La Medición de Reacción de la Antiglobulina Humana

TUBOS	1	2	3	4	5	6	7	8	CONTROL
ALBUMINA BOVINA	2 GOTAS	2 GOTAS	2 GOTAS	2 GOTAS	2 GOTAS	2 GOTAS	2 GOTAS	2 GOTAS	2 GOTAS
AHG	2 GOTAS	DILUCIÓN	DILUCIÓN	DILUCIÓN	DILUCIÓN	DILUCIÓN	DILUCIÓN	DILUCIÓN	
	1.1	1.2	1.4	1.8	1.16	1.32	1.64	0:00	
MUESTRA CELULAS SENSIBILIZADAS	1 GOTAS	1 GOTAS	1 GOTAS	1 GOTAS	1 GOTAS	1 GOTAS	1 GOTAS	1 GOTAS	1 GOTAS
30 MINUTOS	30 MINUTOS	30 MINUTOS	30 MINUTOS	30 MINUTOS	30 MINUTOS	30 MINUTOS	30 MINUTOS	30 MINUTOS	30 MINUTOS
CENTRIFUGAR 20 SEGUNDOS 3500 rpm	CENTRIFUGAR 20 SEGUNDOS 3500 rpm	CENTRIFUGAR 20 SEGUNDOS 3500 rpm	CENTRIFUGAR 20 SEGUNDOS 3500 rpm	CENTRIFUGAR 20 SEGUNDOS 3500 rpm	CENTRIFUGAR 20 SEGUNDOS 3500 rpm	CENTRIFUGAR 20 SEGUNDOS 3500 rpm	CENTRIFUGAR 20 SEGUNDOS 3500 rpm	CENTRIFUGAR 20 SEGUNDOS 3500 rpm	CENTRIFUGAR 20 SEGUNDOS 3500 rpm

FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL SERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
 ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA

INTERPRETACIÓN.- La medición de reacción de la antiglobulina humana es primordial, ya que este medio de reacción es utilizado para detectar inmunoglobulinas causantes de reacciones hemolíticas, prueba indispensable en la compatibilidad sanguínea. Su principio de valuación es la misma, se emplea albumina bovina, ya que es un excelente medio de reacción para IgG, la reacción optima es hasta la dilución 1 en 16.

CAPÍTULO IV

4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 CONCLUSIONES

- ✓ Se identificó que los componentes eritrocitarios más importantes son los glúcidos, ya que estos en su superficie contienen sustancias químicas denominados antígenos, las cuales son reconocidos por los anticuerpos contenidos en antisueros comerciales o natural.
- ✓ Se utilizó como medios de reacción Liss, Albúmina Bovina, Suero de Coombs siendo estos los más apropiados para la interacción de los complejos antígeno – anticuerpo, que fueron identificados en las pruebas inmunohematológicas.
- ✓ Se realizó varios ensayos inmunohematológicos, en los cuales se aplicaron las técnicas de Tipificación Directa e Inversa, Coombs Directa e Indirecta, Prueba de Compatibilidad; que permitieron observar interferencias que afectan a la intensidad de reacción como un lavado y suspensión de células inapropiados, tiempos e intervalos de temperatura de los medios de reacción al utilizar baño maría y termo bloques; velocidades y revoluciones al utilizar centrifugas, produciendo una interpretación errónea en los resultados obtenidos.
- ✓ Se valoró la calidad de los antisueros empleados en las pruebas inmunohematológicas, mediante la evaluación de la avidéz, afinidad e intensidad de reacción dando a conocer que los mismos son aptos para su utilización.

4.2 RECOMENDACIONES

- ✓ Eliminar los componentes eritrocitarios que puedan interferir en la reacción antígeno - anticuerpo, mediante un lavado y suspensión, siguiendo los procedimientos elaborados bajo estrictas normas de control, ya que por una mala preparación los resultados de los ensayos pueden ser alterados.
- ✓ Observar que los reactivos utilizados estén almacenados de manera correcta y su utilización sea únicamente dentro de la fecha de caducidad.
- ✓ Aplicar correctamente las técnicas vigentes en el laboratorio de medicina transfusional ya que se comprobó su validez. Mantener un control de calidad en los equipos utilizados en las diferentes técnicas.

BIBLIOGRAFÍA

LIBROS

1. BAUTISTA; Javier, Gac Méd Méx Vol. 140, 2004
2. BAUTISTA Juárez; Javier, Factores que intervienen en la reacción antígeno-anticuerpo Medicina Transfusional, 2005
3. BERG; Jeremy, Bioquímica, 6ta Edición, 2008
4. DUEÑAS; Víctor Hugo, EL BANCO DE SANGRE, 2^{da} Edición, 2003
5. ESCOBAR; José Bernardo, Manual de Prácticas de Inmunohematología, 1993
6. FIORENTINO; Susana, La Inmunología en el diagnóstico clínico, 1era Edición, 1994
7. FUENTES; Arderiu, Bioquímica Clínica y Patología Molecular, Volumen I, 2da Edición, 1998
8. GAL Iglesias; Beatriz, Bases de la Fisiología, 2da Edición, 2007
9. GARIBAY; Adriana, Manual de Prácticas de Inmunología, 2006
10. JARAMILLO; Fernando, La Práctica Transfusional y La Inmunohematología, 2010
11. MIALE; J. B., Hematología: Medicina de Laboratorio, 6ta Edición, 1985
12. RUIZ Arguelles; Guillermo, Fundamentos de Hematología, 4ta Edición, 2009

SITIOS WEB

1. <http://exa.unne.edu.ar/bioquimica/fisiologia.humana/APUNTE%20GS.pdf>
2. <http://www.buenastareas.com/ensayos/Factores-Que-Afectan-La-Reacci%C3%B3n-Ant%C3%ADgeno-Anticuerpo/5264951.html>
3. <http://www.microinmuno.qb.fcen.uba.ar/SeminarioInmunologia2.htm>
4. [http://whqlibdoc.who.int/hq/1993/WHO_GPA_CNP_93.2D_\(part2\)_spa.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/1993/WHO_GPA_CNP_93.2D_(part2)_spa.pdf)
5. http://bvs.sld.cu/revistas/hih/vol17_2_01/hih03201.pdf
6. [http://portal.licon.mx/personal/licon/index.php?ACTION=APLICACION.CMS.GOTO_CARGAR_PLANTILLA&PID=licon&CMD=7:32\(\)|214:108\(27\)&EVE=&CID=9mRMe9RfcO&SID=TwHYmCJN8PBtrt5uCas16SmaOT2q4n9sOvPSPmgw](http://portal.licon.mx/personal/licon/index.php?ACTION=APLICACION.CMS.GOTO_CARGAR_PLANTILLA&PID=licon&CMD=7:32()|214:108(27)&EVE=&CID=9mRMe9RfcO&SID=TwHYmCJN8PBtrt5uCas16SmaOT2q4n9sOvPSPmgw)
7. <http://www.aathi.com.ar/pdfs/reactivosdeinmunohem.pdf>
8. http://www.linear.es/ficheros/archivos/804_34100-C.pdf
9. http://www.wienerlab.com.ar/wiener/catalogo/archivos/6427_anti_a_anti_b_anti_ab_monoclonal_sp.pdf
10. <http://www.hemobaires.org.ar/pdfs/Discrepancias%20ABO%20-%201-06-2010%20-%20Dra%20Marcela%20Garcia%20Rosasco.pdf>

SOX

Anexo N° 1: Registro Diario de Temperaturas Noviembre 2012 – Abril 2013

DÍAS	NOVIEMBRE	DICIEMBRE	ENERO	FEBRERO	MARZO	ABRIL
1	2	6	6	4	3	7
2	3	4	5	3	6	5
3	5	3	2	4	4	2
4	6	2	6	5	2	5
5	8	4	4	2	4	2
6	10	3	2	3	2	4
7	3	5	5	5	5	2
8	4	3	7	3	6	4
9	6	4	8	2	2	5
10	2	6	3	4	9	3
11	7	7	5	2	5	4
12	4	4	2	6	4	4
13	6	3	12	4	2	2
14	11	8	5	6	3	4
15	3	10	6	3	4	4
16	4	4	7	8	2	2
17	5	6	4	3	4	6

18	7	3	3	4	3	5
19	8	4	5	5	3	3
20	5	5	6	2	3	6
21	9	6	2	6	3	5
22	10	3	7	5	4	8
23	5	2	8	2	4	5
24	4	4	3	4	5	3
25	6	4	5	5	6	4
26	7	5	2	2	3	5
27	4	5	7	4	4	7
28	7	6	6	4	2	5
29	4	7	5	-	6	6
30	6	3	3	-	7	4
31	-	-	4	-	4	-
PROMEDIO	5,7	4,6	5,0	3,9	4,0	4,4

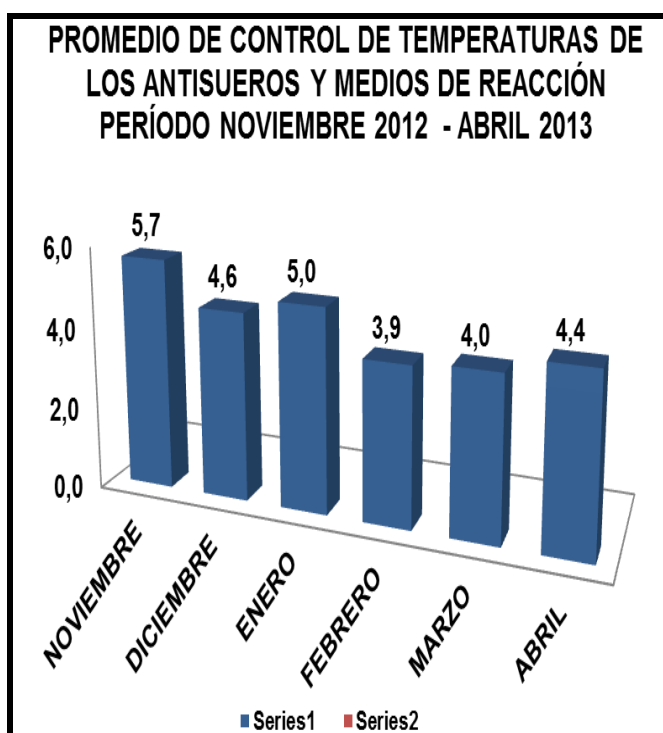
**FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL
DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA**

Anexo N° 2: Registro de Control de Temperaturas de los Antisueros y Medios de Reacción Período Noviembre 2012 - Abril 2013

MES	PROMEDIO
NOVIEMBRE	5,7
DICIEMBRE	4,6
ENERO	5,0
FEBRERO	3,9
MARZO	4,0
ABRIL	4,4
PROMEDIO	4,6

FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA

Anexo N° 3: Promedio de Control de Temperaturas de los Antisueros y Medios de Reacción Período Noviembre 2012 - Abril 2013



FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA

**Anexo N° 4: Valoración de la Intensidad de Reacción de Antisueros
para Identificación de Grupos ABO**

ENSAYOS	ANTI-A	ANTI-B	ANTI AB	GRUPO	ANTI-CDE
1	3	0	4	A	POSITIVO
2	0	0	0	O	POSITIVO
3	0	0	0	O	POSITIVO
4	0	4	4	B	POSITIVO
5	0	0	0	O	POSITIVO
6	0	0	0	O	POSITIVO
7	0	0	0	O	POSITIVO
8	0	0	0	O	POSITIVO
9	0	0	0	O	POSITIVO
10	0	0	0	O	POSITIVO
11	0	0	0	O	POSITIVO
12	0	0	0	O	POSITIVO
13	0	0	0	O	POSITIVO
14	0	0	0	O	POSITIVO
15	0	0	0	O	POSITIVO
16	0	0	0	O	POSITIVO
17	0	0	0	O	POSITIVO
18	0	0	0	O	POSITIVO
19	0	0	0	O	POSITIVO
20	0	0	0	O	POSITIVO
21	2	0	40	A	POSITIVO
22	0	0	0	O	POSITIVO
23	0	0	0	O	POSITIVO
24	0	0	0	O	POSITIVO
25	0	0	0	O	POSITIVO
26	0	0	0	O	POSITIVO
27	0	0	0	O	POSITIVO
28	0	0	0	O	POSITIVO
29	3	0	4	A	POSITIVO
30	3	0	4	A	POSITIVO
31	3	0	4	A	POSITIVO
32	3	0	4	A	POSITIVO
33	3	0	4	A	POSITIVO
34	0	4	4	B	POSITIVO
35	0	4	4	B	POSITIVO
36	0	4	4	B	POSITIVO
37	0	4	4	B	POSITIVO

38	3	4	4	AB	POSITIVO
39	0	0	0	O	POSITIVO
40	0	0	0	O	POSITIVO
41	0	0	0	O	POSITIVO
42	0	0	0	O	POSITIVO
43	0	0	0	O	POSITIVO
44	0	0	0	O	POSITIVO
45	0	0	0	O	POSITIVO
46	0	0	0	O	POSITIVO
47	0	0	0	O	POSITIVO
48	0	0	0	O	POSITIVO
49	0	0	0	O	POSITIVO
50	0	0	0	O	POSITIVO
51	0	0	0	O	POSITIVO
52	0	0	0	O	POSITIVO
53	0	0	0	O	POSITIVO
54	0	0	0	O	POSITIVO
55	0	0	0	O	POSITIVO
56	2	4	4	AB	POSITIVO
57	0	0	0	O	POSITIVO
58	0	0	0	O	POSITIVO
59	0	0	0	O	POSITIVO
60	0	0	0	O	POSITIVO
61	0	0	0	O	POSITIVO
62	0	0	0	O	POSITIVO
63	0	0	0	O	POSITIVO
64	0	0	0	O	POSITIVO
65	0	0	0	O	POSITIVO
66	0	0	0	O	POSITIVO
67	0	0	0	O	POSITIVO
68	3	4	4	AB	POSITIVO
69	0	0	0	O	POSITIVO
70	0	0	0	O	POSITIVO
71	0	0	0	O	POSITIVO
72	0	0	0	O	POSITIVO
73	0	0	0	O	POSITIVO
74	0	0	0	O	POSITIVO
75	0	0	0	O	POSITIVO
76	0	0	0	O	POSITIVO
77	0	0	0	O	POSITIVO
78	0	0	0	O	POSITIVO

79	0	4	4	B	POSITIVO
80	0	4	4	B	POSITIVO
81	2	4	4	AB	POSITIVO
82	0	0	0	O	POSITIVO
83	0	0	0	O	POSITIVO
84	0	0	0	O	POSITIVO
85	0	0	0	O	POSITIVO
86	0	0	0	O	POSITIVO
87	0	0	0	O	POSITIVO
88	0	0	0	O	POSITIVO
89	0	0	0	O	POSITIVO
90	0	0	0	O	POSITIVO
91	1	0	4	A	POSITIVO
92	2	0	4	A	POSITIVO
93	3	4	4	AB	POSITIVO
94	0	0	0	O	POSITIVO
95	0	0	0	O	POSITIVO
96	0	0	0	O	POSITIVO
97	0	0	0	O	POSITIVO
98	0	0	0	O	POSITIVO
99	0	0	0	O	POSITIVO
100	0	0	0	O	POSITIVO

**FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL SERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL
DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA**

Anexo N° 5: Valoración de Pantallas Incubación de Liss Cinco Minutos

ENSAYOS	TIEMPO	LISS	AHG	INTERPRETACIÓN
1	5	0	0	NEGATIVO
2	5	1	0	NEGATIVO
3	5	1	0	NEGATIVO
4	5	1	0	NEGATIVO
5	5	2	0	NEGATIVO
6	5	2	0	NEGATIVO
7	5	2	0	NEGATIVO
8	5	2	0	NEGATIVO
9	5	1	0	NEGATIVO
10	5	2	0	NEGATIVO
11	5	1	0	NEGATIVO
12	5	2	0	NEGATIVO
13	5	1	0	NEGATIVO
14	5	1	0	NEGATIVO
15	5	1	0	NEGATIVO
16	5	2	0	NEGATIVO
17	5	2	0	NEGATIVO
18	5	1	0	NEGATIVO
19	5	1	0	NEGATIVO
20	5	2	0	NEGATIVO
21	5	1	0	NEGATIVO
22	5	2	0	NEGATIVO
23	5	1	0	NEGATIVO
24	5	2	0	NEGATIVO
25	5	1	0	NEGATIVO

26	5	0	0	NEGATIVO
27	5	1	0	NEGATIVO
28	5	2	0	NEGATIVO
29	5	0	0	NEGATIVO
30	5	0	0	NEGATIVO
31	5	0	0	NEGATIVO
32	5	0	0	NEGATIVO
33	5	1	0	NEGATIVO
34	5	0	0	NEGATIVO
35	5	0	0	NEGATIVO
36	5	2	0	NEGATIVO
37	5	2	0	NEGATIVO
38	5	2	0	NEGATIVO
39	5	3	0	NEGATIVO
40	5	0	0	NEGATIVO
41	5	0	0	NEGATIVO
42	5	1	0	NEGATIVO
43	5	0	0	NEGATIVO
44	5	2	0	NEGATIVO
45	5	0	0	NEGATIVO
46	5	0	0	NEGATIVO
47	5	0	0	NEGATIVO
48	5	1	0	NEGATIVO
49	5	0	0	NEGATIVO
50	5	1	0	NEGATIVO

**FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL SERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL
DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA**

Anexo N° 6: Valoración de Pantallas Incubación de Liss Quince Minutos

ENSAYOS	TIEMPO	LISS	AGH	AHG
1	15	4	4	POSITIVO
2	15	0	0	NEGATIVO
3	15	0	0	NEGATIVO
4	15	0	0	NEGATIVO
5	15	0	0	NEGATIVO
6	15	0	0	NEGATIVO
7	15	0	0	NEGATIVO
8	15	0	0	NEGATIVO
9	15	0	0	NEGATIVO
10	15	0	0	NEGATIVO
11	15	0	0	NEGATIVO
12	15	0	0	NEGATIVO
13	15	0	0	NEGATIVO
14	15	0	0	NEGATIVO
15	15	0	0	NEGATIVO
16	15	0	0	NEGATIVO
17	15	0	0	NEGATIVO
18	15	0	0	NEGATIVO
19	15	0	0	NEGATIVO
20	15	0	0	NEGATIVO
21	15	0	0	NEGATIVO
22	15	0	0	NEGATIVO
23	15	0	0	NEGATIVO
24	15	0	0	NEGATIVO
25	15	0	0	NEGATIVO

26	15	4	4	POSITIVO
27	15	0	0	NEGATIVO
28	15	0	0	NEGATIVO
29	15	0	0	NEGATIVO
30	15	0	0	NEGATIVO
31	15	4	4	POSITIVO
32	15	4	4	POSITIVO
33	15	0	0	NEGATIVO
34	15	0	0	NEGATIVO
35	15	0	0	NEGATIVO
36	15	0	0	NEGATIVO
37	15	0	0	NEGATIVO
38	15	0	0	NEGATIVO
39	15	0	0	NEGATIVO
40	15	0	0	NEGATIVO
41	15	0	0	NEGATIVO
42	15	0	0	NEGATIVO
43	15	0	0	NEGATIVO
44	15	0	0	NEGATIVO
45	15	0	0	NEGATIVO
46	15	0	0	NEGATIVO
47	15	0	0	NEGATIVO
48	15	0	0	NEGATIVO
49	15	4	4	POSITIVO
50	15	0	0	NEGATIVO

**FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL SERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL
DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA**

ANEXO N° 7: Valoración de Pantallas Incubación con Albumina Bovina Treinta Minutos

ENSAYOS	TIEMPO	LISS	AGH	AHG
1	30	4	4	POSITIVO
2	30	0	0	NEGATIVO
3	30	0	0	NEGATIVO
4	30	0	0	NEGATIVO
5	30	0	0	NEGATIVO
6	30	0	0	NEGATIVO
7	30	0	0	NEGATIVO
8	30	0	0	NEGATIVO
9	30	0	0	NEGATIVO
10	30	0	0	NEGATIVO
11	30	0	0	NEGATIVO
12	30	0	0	NEGATIVO
13	30	0	0	NEGATIVO
14	30	0	0	NEGATIVO
15	30	0	0	NEGATIVO
16	30	0	0	NEGATIVO
17	30	0	0	NEGATIVO
18	30	0	0	NEGATIVO
19	30	0	0	NEGATIVO
20	30	0	0	NEGATIVO
21	30	0	0	NEGATIVO
22	30	0	0	NEGATIVO
23	30	0	0	NEGATIVO
24	30	0	0	NEGATIVO
25	30	0	0	NEGATIVO

26	30	4	4	POSITIVO
27	30	0	0	NEGATIVO
28	30	0	0	NEGATIVO
29	30	0	0	NEGATIVO
30	30	0	0	NEGATIVO
31	30	4	4	POSITIVO
32	30	4	4	POSITIVO
33	30	0	0	NEGATIVO
34	30	0	0	NEGATIVO
35	30	0	0	NEGATIVO
36	30	0	0	NEGATIVO
37	30	0	0	NEGATIVO
38	30	0	0	NEGATIVO
39	30	0	0	NEGATIVO
40	30	0	0	NEGATIVO
41	30	0	0	NEGATIVO
42	30	0	0	NEGATIVO
43	30	0	0	NEGATIVO
44	30	0	0	NEGATIVO
45	30	0	0	NEGATIVO
46	30	0	0	NEGATIVO
47	30	0	0	NEGATIVO
48	30	0	0	NEGATIVO
49	30	4	4	POSITIVO
50	30	0	0	NEGATIVO

**FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL
DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA**

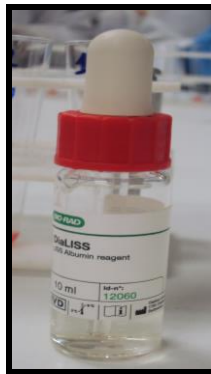
MATERIALES



ANEXO N° 8: MUESTRA CON EDTA

FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL SERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR

ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA



ANEXO N° 9: REACTIVO LISS

FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL SERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR

ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA



ANEXO N° 10: REACTIVO COOMBS

FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL SERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR

ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA



ANEXO N° 11: REACTIVOS ANTI-LECTINAS
FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA



ANEXO N° 12: SOLUCIÓN SALINA
FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA

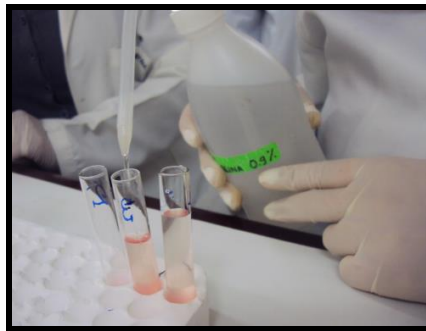


ANEXO N° 13: LÁMPARA LUZ BLANCA
FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA

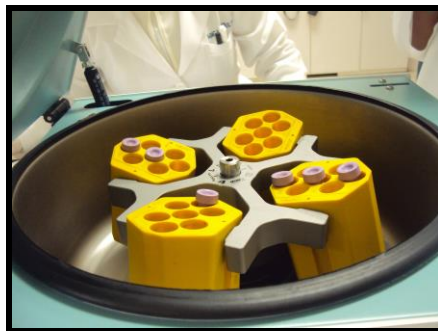
LAVADO Y SUSPENSIÓN DE CÉLULAS



ANEXO N° 14: SEPARACIÓN DEL PLASMA
FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA



ANEXO N° 15: PONER LA SOLUCIÓN SALINA
FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA



ANEXO N° 16: CENTRIFUGACIÓN
FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA



ANEXO N° 17: DECANTACIÓN
FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA



ANEXO N° 18: MUESTRA LAVADA
FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA



ANEXO N° 19: MUESTRA SUSPENDIDA (1/20)
FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA

TIPIFICACIÓN DIRECTA



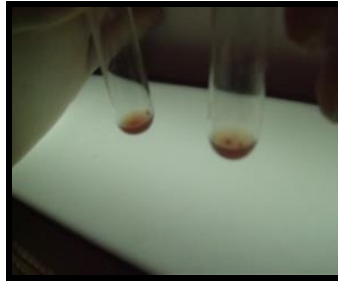
ANEXO N° 20: REACTIVOS DE TIPIFICACIÓN
FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL SERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA



ANEXO N° 21: COLOCAR EL REACTIVO
FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL SERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA



ANEXO N° 22: MUESTRA CENTRIFUGADA
FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL SERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA

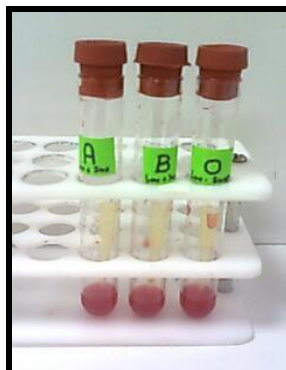


ANEXO N° 23: LECTURA
FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA

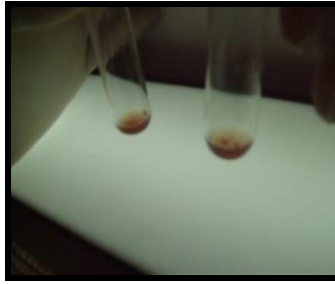
TIPIFICACIÓN INVERSA



ANEXO N° 24: SUERO DEL PACIENTE
FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA



ANEXO N° 25: CÉLULAS ABO
FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA



ANEXO N° 26: LECTURA
FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA

COOMBS



ANEXO N° 27: CÉLULAS LAVADAS Y SUSPENDIDAS
FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA



ANEXO N° 28: COLOCAR ANTIGLOBULINA HUMANA
FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA



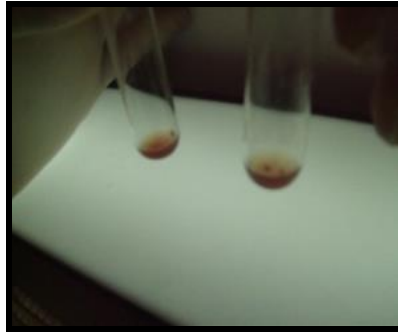
ANEXO N° 29: CENTRIFUGACIÓN
FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA



ANEXO N° 30: COLOCAR CONTROL COOMBS
FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA

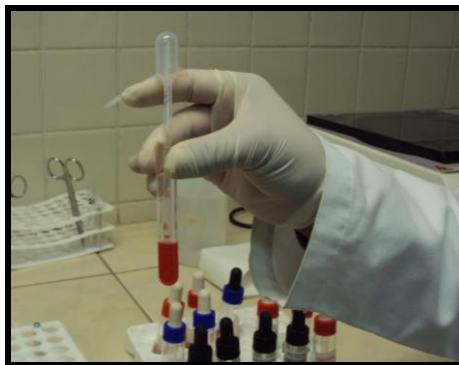


ANEXO N° 31: CENTRIFUGACIÓN
FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA



ANEXO N° 32: LECTURA
FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA

PRUEBAS CRUZADAS



ANEXO N° 33: MUESTRA DEL DONANTE
FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA



ANEXO N° 34: MUESTRA EN INVESTIGACIÓN
FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA



ANEXO N° 35: CENTRIFUGACIÓN
FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA



ANEXO N° 36: COLOCAR ALBÚMINA BOVINA
FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA



ANEXO N° 37: CENTRIFUGACIÓN
FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA



ANEXO N° 38: INCUBACIÓN DE LAS MUESTRAS
FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA



ANEXO N° 39: LAVAR LA MUESTRA
FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA



ANEXO N° 40: COLOCAR ANTIGLOBULINA HUMANA
FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA



ANEXO N° 41: CENTRIFUGACIÓN
FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL
DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA



ANEXO N° 42: LECTURA
FUENTE: LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA DEL S ERVICIO MEDICINA TRANSFUSIONAL
DEL HPGDR
ELABORADO: EVELYN CASTILLO – FERNANDA LARA