



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO

**TESINA DE GRADO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO
DE LICENCIADAS EN CIENCIAS DE LA SALUD**

MENCIÓN: LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO

TÍTULO DEL PROYECTO DE TESINA

**“CORRELACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA
ANTIGLOBULÍNICA INDIRECTA MEDIANTE EL USO DE
PANTALLAS I Y II CON PANTALLAS I - II Y III PARA
IDENTIFICAR ANTICUERPOS INESPECÍFICOS EN MUESTRAS DE
SANGRE DE USUARIOS ATENDIDOS EN EL SERVICIO DE
MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL H.P.G.D.R. DURANTE EL
PERIODO JUNIO A NOVIEMBRE DE 2013”**

AUTORES

QUIMBIULCO BEDÒN TATIANA ALEXANDRA

RAMÍREZ ENCARNACIÓN LILIAN MARICELA

TUTOR

LIC. FERNANDO JARAMILLO

RIOBAMBA – ECUADOR

ENERO 2014



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO

TEMA

“CORRELACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA ANTIGLOBULÍNICA INDIRECTA MEDIANTE EL USO DE PANTALLAS I Y II CON PANTALLAS I - II Y III PARA IDENTIFICAR ANTICUERPOS INESPECÍFICOS EN MUESTRAS DE SANGRE DE USUARIOS ATENDIDOS EN EL SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL H.P.G.D.R. DURANTE EL PERIODO JUNIO A NOVIEMBRE DE 2013”

PRESENTADO Y APROBADO ANTE EL TRIBUNAL CONFORMADO POR:

NOTA.....

Lic. Ximena Robalino

PRESIDENTE

Lic. Fernando Jaramillo

TUTOR DE LA TESINA

Lic. Iván Peñafiel

MIEMBRO

RIOBAMBA – ECUADOR

ACEPTACIÓN DEL TUTOR

Por la presente, hago constar que he leído el protocolo del Proyecto de Grado presentado por las señoritas **Tatiana Alexandra Quimbiulco Bedón** y **Lilian Maricela Ramírez Encarnación**, para optar el título de Licenciadas en Laboratorio Clínico e Histopatológico y que acepto asesorar a las estudiantes en calidad de tutor, durante la etapa de desarrollo del trabajo hasta su presentación y evaluación.

Riobamba 10 de Mayo del 2013.



.....
Lic. Fernando Jaramillo

Tutor

AGRADECIMIENTO

A Dios, que día a día me ilumina para seguir adelante con mis estudios, a la Universidad Nacional de Chimborazo, a su Facultad Ciencias de la Salud, en especial a la Carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico por los conocimientos adquiridos en tan prestigiosa institución. A los docentes ya que gracias a ellos hemos comprendido el verdadero valor del trabajo, a mis familiares y amigos quienes son el pilar fundamental y quienes le dan verdadero sentido a mi vida.

Tatiana Quimbiulco

AGRADECIMIENTO

A Dios, y a mis catedráticos que durante toda mi estadía aquí en esta prestigiosa institución que me han enseñado con dedicación y responsabilidad sus conocimientos, a mi Mamá María Encarnación (+) a mi Padre José Ramírez a mi hijo Sebastián que es mi gran orgullo y ejemplo y hermanos por siempre estar a mi lado dándome valor y apoyo.

Lilian Ramírez

DEDICATORIA

A mis padres quienes me inculcaron los valores de la responsabilidad y la dedicación para cumplir con mis obligaciones. A mis hermanos quienes me motivaron y siempre estuvieron allí cuando más necesitaba y realizaron de mí una persona útil para la sociedad

Tatiana Quimbiulco

DEDICATORIA

A mi hijo Sebastián y a mi familia y a todas las personas que estuvieron siempre a mi lado brindándome su apoyo incondicional.

Lilian Ramírez

RESUMEN

El presente trabajo investigativo contiene conocimientos básicos acerca de la Expresión de los Antígenos del Sistema Rh, mediante la correlación de los resultados de la prueba antiglobulínica indirecta mediante el uso de pantallas I y II, con pantallas I-II y III, para identificar anticuerpos inespecíficos en muestras de sangre de usuarios atendidos en el servicio de medicina transfusional del Hospital General Docente Riobamba. La prueba antiglobulínica indirecta tiene la finalidad de poner de manifiesto la presencia de anticuerpos, completos o incompletos, fijados a la membrana eritrocitaria lo cual es una causa de hemólisis in vivo por ello la presente se trata de la correlación de los resultados de coombs indirecto, existe variedad de reactivos o medios de reacción que se emplean para estas pruebas, entre tantas están las pantallas de células reactivas conocidas como I y II otras como I- II y III, al usar la misma muestra de suero o plasma con estos dos medios de evaluación, es el propósito de estudio, para garantizar los resultados, para prevenir en el paciente o usuario reacciones antígeno anticuerpo in vivo y asegurar ya sea la transfusión o tratamiento feto materno. Se realizó la prueba a 67 pacientes, de los cuales 9 antiglobulina directa positivos y 58 antiglobulina directa negativos. Se concluye que los 9 pacientes son Rh positivos se le debe realizar el antiglobulina indirecta, la composición de las células I - II - III permite descartar la composición antigénica ccdee, que descarta al anticuerpo anti-D, esta es una prueba confirmatoria.

Esta tesis consta de una descripción del problema a investigar con objetivos claros que constituyen los propósitos del trabajo investigativo así como un marco teórico que ayudará a la comprensión del tema propuesto con ideas claras y con la explicación de términos básicos llegando a conclusiones y recomendaciones, finalmente se presenta algunos datos estadísticos que comprueban la veracidad de la investigación donde las células I, II y III mejoran la reacción Antígeno- Anticuerpo y su interpretación.



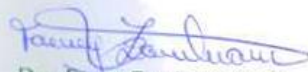
UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CENTRO DE IDIOMAS

ABSTRACT

This research work provides basic knowledge about the expression of the Rh system antigens, by correlating the results of the indirect antiglobulin test using displays I and II, with screens and I -II- III, to identify antibodies nonspecific in blood samples of users treated in transfusion medicine service of General Teaching Hospital Riobamba. Indirect antiglobulin test is intended to reveal the presence of antibodies , complete or incomplete , attached to the erythrocyte membrane which is a cause hemolysis in vivo thus this is the correlation of results of indirect Coombs, there are a variety of reagents or ways of reacting that are used for these tests , among many displays known as reactive cells I and II other as I, II and III, using the same sample of serum or plasma with these two evaluation process, is the purpose of study, to ensure the results , to prevent the patient or user antigen antibody reactions in vivo and secure either maternal or fetal transfusion therapy, testing was conducted to 67 patients, including 9 direct antiglobulin positive and 58 negative direct antiglobulin . We conclude that the 9 patients are Rh positive so you must perform the indirect antiglobulin, the composition of I, II- III cells allows ccdee antigenic composition rule, which discards the anti- D, this is a confirmatory test.

This thesis contains a description of the research problem with clear objectives which are the purposes of the research work as well as a theoretical framework to help comprehension of the proposed topic with clear ideas and the explanation of basic terms reaching conclusions and recommendations finally some statistics that prove the veracity of research where cells 1, 2 and 3 enhance antigen-Antibody relationship and its interpretation is presented.

Reviewed by:



Dra. Fanny Zambrano MsC.

ENGLISH PROFESSOR AT LANGUAGES CENTER



Riobamba January 8th, 2014

ÍNDICE GENERAL

PORTADA	i
ACEPTACION DE TRIBUNAL.....	ii
ACEPTACIÓN DEL TUTOR	iii
AGRADECIMIENTO	iv
DEDICATORIA	v
RESUMEN	vi
ABSTRACT.....	vii
ÍNDICE GENERAL	viii
ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE GRÁFICOS	xi
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I	
1. PROBLEMATIZACIÓN.	3
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.	4
1.3 OBJETIVOS.	4
1.3.1 OBJETIVO GENERAL	4
1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	4
1.4 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA.....	5
CAPÍTULO II	
2. MARCO TEÓRICO.	6
2.1 POSICIONAMIENTO PERSONAL.....	6
2.2 FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.	6
2.2.1. ANTÍGENOS	6
2.2.2 ANTÍGENOS DE SIGNIFICADO CLÍNICO	13
2.3. ANTICUERPOS.....	14
2.3.1. CONCEPTO:.....	14
2.3.2 IMPORTANCIA DE LOS ANTICUERPOS EN PATOLOGÍA	15
2.3.3 ESTRUCTURA.....	15
2.3.4 FUNCIONES.....	15
2.3.5 CLASIFICACIÓN:.....	16

2.3.6	ALOANTICUERPOS.	21
2.4	ANTICUERPOS SISTEMA RH.	22
2.4.1	ANTICUERPOS NATURALES.	23
2.4.2	ANTICUERPOS INMUNES	23
2.4.3	ANTICUERPOS IRREGULARES	23
2.5	REACCIÓN ANTÍGENO ANTICUERPO.	24
2.6	TRANSFUSIÓN DE SANGRE	26
2.6.2	DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO.....	28
2.6.3	POSIBLES COMPLICACIONES.....	28
2.6.4	TRES SITUACIONES CLÍNICAS EN LAS QUE ESTÁ INDICADA LA TERAPIA TRANSFUSIONAL.	29
2.6.5	MULTÍPARA.....	30
2.6.6	MEDIDAS DE SEGURIDAD.....	30
2.7	ENFERMEDAD HEMOLÍTICA DEL RECIÉN NACIDO	31
2.7.1	REACCIÓN TRANSFUSIONAL HEMOLÍTICA INMUNE INMEDIATA	32
2.7.2	REACCIÓN HEMOLÍTICA TARDÌA A LA TRANSFUSIÒN	33
2.8	MEDIOS QUE FACILITAN LA REACCIÓN ANTÍGENO ANTICUERPO.	33
2.8.1	CONCENTRACIÓN DE ANTÍGENO Y ANTICUERPO.....	34
2.9.	TÉCNICAS QUE IDENTIFICAN LA REACCIÓN ANTÍGENO ANTICUERPO.....	35
2.9.1	LAVADO Y SUSPENSIÓN DE HEMATÍES.....	35
2.9.2	TÉCNICA PARA VALORACIÓN DE ANTÍGENOS MAYORES Y MENORES DEL SISTEMA RH.....	36
2.9.4	DEFINICIÓN.	37
2.9.5	CLASIFICACIÓN.....	37
2.9.6	COOMBS DIRECTO (TÉCNICA E INTERPRETACIÓN.....	38
2.9.7	COOMBS INDIRECTO(TÉCNICA DE PANTALLAS I-II Y I-II-III)	40
2.10.	DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS.....	46
2.11	HIPÓTESIS Y VARIABLES.....	51
2.11.1	HIPÓTESIS.....	51
2.11.2	VARIABLES.....	51
2.12	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....	4
CAPÍTULO III		
3.	MARCO METODOLÓGICO	54
3.1	MÉTODO CIENTÍFICO.-	54

3.1.1	MÉTODO DEDUCTIVO- INDUCTIVO:	54
3.1.2	LA APLICACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO:	54
3.1.3	LA UTILIZACIÓN DEL MÉTODO SINTÉTICO:	54
3.1.4	APLICACIÓN DEL MÉTODO EXPLICATIVO:	55
3.1.5	TIPO DE INVESTIGACIÓN:	55
3.1.6	DESCRIPTIVA:	55
3.1.7	EXPLICATIVA:	55
3.1.8	DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	55
3.2	POBLACIÓN Y MUESTRA	56
3.2.1	POBLACIÓN	56
3.2.2	MUESTRA	56
3.3	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.	56
3.4	TÉCNICAS.....	56
3.4.1	OBSERVACIÓN:.....	56
3.4.2	ANÁLISIS DOCUMENTAL.....	56
3.4.3	RECOPIACIÓN BIBLIOGRÁFICA	56
3.5	INSTRUMENTOS:	57
3.6	GUÍA DE OBSERVACIÓN:	57
3.7	COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS	58
3.8	ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	59
CAPÍTULO IV		
4.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	67
4.1	CONCLUSIONES:.....	67
4.2	RECOMENDACIONES	68
BIBLIOGRAFÍA:		69
LINKOGRAFÍA		70
ANEXO.....		71

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° 1. PATRONES DE REACCIÓN.....	39
TABLA N° 2. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....	4
TABLA N° 3. INSTRUMENTOS, MATERIALES Y REACTIVOS.....	57
TABLA N° 4. CANTIDAD DE ENSAYOS REALIZADOS EN EL PERIODO INVESTIGATIVO.....	59
TABLA N° 5. DETERMINACIÓN DE FENOTIPOS DE LOS ENSAYOS REALIZADOS	60
TABLA N° 6. ENSAYOS TAD ANTIGLOBULÍNICOS DIRECTOS.....	61
TABLA N° 7. ENSAYOS TAI ANTIGLOBULÍNICOS INDIRECTOS	62
TABLA N° 8. ANÁLISIS DE ENSAYOS MULTIPANEL	63
TABLA N° 9. ANÁLISIS DE LAS PANTALLAS I - II Y III.....	64
TABLA N° 10. FASE SALINA	65
TABLA N° 11. FASE LISS	65
TABLA N° 12. .FASE COOMBS	66
TABLA N° 13. CORRELACIÓN DE LOS RESULTADOS DE PANTALLAS	66
TABLA N° 14. RESULTADOS EN LAS DIFERENTES DETERMINACIONES	66

ÍNDICE DE GRÁFICOS

FIGURA N° 1. ESQUEMA DE ANTÍGENO	6
FIGURA N° 2. MEMBRANA CELULAR B	9

FIGURA N° 3.FUNCIÓN DE UN ANTÍGENO.....	10
FIGURA N° 4. ANTÍGENO FRENTE A UN ANTICUERPO Y SUS EPÍTOPOS.....	12
FIGURA N° 5. ESQUEMA DE ANTÍGENO.....	14
FIGURA N° 6. INMUNOGLOBULINA G (IGG).....	17
FIGURA N° 7. INMUNOGLOBULINA G (IGM).....	18
FIGURA N° 8. INMUNOGLOBULINA G (IGA).....	19
FIGURA N° 9. INMUNOGLOBULINA G (IGE).....	20
FIGURA N° 10.AUTOANTICUERPOS.....	22
FIGURA N° 11. REACCIONES ANTÍGENO ANTICUERPO.....	24
FIGURA N° 12. UNIÓN DE ANTÍGENO ANTICUERPO.....	25
FIGURA N° 13. REACCIONES SECUNDARIA ANTÍGENO–ANTICUERPO.....	26
FIGURA N° 14. CANTIDAD DE COMPLEMENTO.....	35
FIGURA N° 15.LAVADO Y SUSPENSIÓN DE HEMATÍES.....	35
FIGURA N° 16.LAVADO Y SUSPENSIÓN DE HEMATÍES.....	36
FIGURA N° 17. PRUEBA DE COOMBS INDIRECTA.....	38
FIGURA N° 18. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	43
FIGURA N° 19. REACTIVOS DE MULTIPANEL.....	45
FIGURA N° 20. COMBINACIONES FENOTÍPICAS DE LOS ENSAYOS REALIZADOS.....	59
FIGURA N° 21. COMBINACIONES FENOTÍPICAS DE LOS ENSAYOS REALIZADOS.....	60
FIGURA N° 22. ENSAYOS TAD ANTIGLOBULÍNICOS DIRECTOS.....	61
FIGURA N°23. ENSAYOS TAI ANTIGLOBULÍNICOS INDIRECTOS.....	62
FIGURA N°24. ENSAYOS DE MULTIPANEL POSITIVOS.....	63
FIGURA N° 25. ANÁLISIS PANTALLAS I, II Y III.....	64

INTRODUCCIÓN

Los anticuerpos inespecíficos o irregulares son proteínas que reaccionan contra antígenos específicos y que son poco comunes y causan incompatibilidad sanguínea entre donantes y receptores.

La medicina transfusional es una herramienta muy importante en todas las áreas de la medicina, los concentrados eritrocitarios funcionan como un mecanismo auxiliar en el proceso respiratorio de pacientes a quienes una condición patológica les impide elaborar eficientemente sus propias células sanguíneas o bien en pacientes con pérdida sanguínea grave en quienes el vital líquido es requerido para recuperar o mantener el equilibrio del cuerpo.

No obstante su utilidad, se reconocen efectos nocivos ocasionados por reacciones transfusionales cuya aparición puede ser inmediata o tardía el efecto inmediato va de leve a grave y se puede manifestar en forma de urticaria, fiebre o choque anafiláctico, se atribuye a factores tales como la contaminación bacteriana del componente transfundido o la respuesta inmune debida a la introducción de un antígeno desconocido por el paciente.

Esta respuesta se debe a anticuerpos contra las diferentes células sanguíneas de tal forma que se identifican anticuerpos contra antígenos, componentes leucocitarios, plaquetarios, eritrocitarios o del sistema HLA.

Entre los anticuerpos anti eritrocitos el más nocivo es el que provoca la incompatibilidad por sistema ABO: ha ocasionado aproximadamente 40 % de las muertes por incompatibilidad.

Para conocer la naturaleza de los anticuerpos presentes en una reacción transfusional es muy importante disponer de todos los antecedentes que de alguna manera afectan o provocan la producción de los mismos, tales como los transfusionales y cuando se

habla de mujeres los gineco obstétricos, para indagar respecto a una probable enfermedad hemolítica del recién nacido.

Las reacciones transfusionales tardías son efectos adversos producidos por la transmisión de microorganismos contenidos en la sangre del donador.

Desde el punto de vista de la medicina transfusional, los anticuerpos contra antígenos sanguíneos se clasifican como anticuerpos contra aloantígenos son los que se producen contra antígenos de eritrocitos, leucocitos y plaquetas.

Anticuerpos contra los propios antígenos del individuo son autoanticuerpos contra antígenos, eritrocitos y plaquetas, los producidos en enfermedades autoinmunes como las de la colágena.

Dentro de los anticuerpos naturales, se les estudia a los que se dirigen a los antígenos del sistema ABO y estos son los anti-a y anti-b. Los irregulares adquiridos o inmunes, son anti sistema Rh (anti-D, anti-c, anti-C y otros), anti-Kell, anti-Duffy.

La mayoría de las pruebas serológicas en Inmunohematología dependen de reacciones entre antígenos en los glóbulos rojos y anticuerpos en el suero, los anticuerpos sanguíneos son usualmente IgG o IgM y en casos raros IgA.

La capacidad de fijar complemento por algunos de estos anticuerpos son también importantes para el entendimiento de algunos fenómenos in vitro y in vivo, usualmente los anticuerpos IgG tienen mayor significado clínico, reacciones hemolíticas transfusionales causadas por anticuerpos IgM con fijación de complemento pueden causar hemólisis intravascular severa y reacciones transfusionales hemolíticas causadas por anticuerpos IgG pueden causar hemólisis extravascular y reacción menos severa para ello se utilizan las pruebas antiglobulínicas. Conocidas como pantallas existe variedad de presentación que ofertan las casas comerciales, cuya variedad entre ellas van desde el precio hasta la calidad, presentar la correlación eficaz de resultados de las pantallas I - II con las pantallas I - II y III, es el propósito de nuestro trabajo investigativo.

CAPÍTULO I

1. PROBLEMATIZACIÓN.

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Entre las medidas de seguridad transfusional están aquellas encaminadas a evitar la reacción hemolítica aguda, es decir las que aseguran la compatibilidad entre donante-receptor.

Aunque comprenden tanto normas pretransfusionales como para la administración de los componentes sanguíneos en general, se definen como pruebas de compatibilidad a las pruebas analíticas de laboratorio que se llevan a cabo para detectar posibles Ac en el receptor contra Ag en las células a transfundir.

Estas incluyen diferentes estudios en el receptor determinación de grupo y Rh, investigación de anticuerpos irregulares y en concreto las denominadas pruebas cruzadas, que se llevan a cabo en determinados casos entre suero del receptor y células del donante e investigan la presencia de posibles Ac en suero mediante su reacción en diferentes medios físico-químicos.

Por la importancia de la reacción hemolítica en los casos de incompatibilidad eritrocitarios, feto materno, se debe disponer en los laboratorios reactivos que permitan evaluar de manera adecuada, precisa, estos anticuerpos. La forma de evaluarlos son mediante la aplicación de la prueba de coombs o llamada también antiglobulínica, existe variedad de reactivos o medios de reacción que se emplean para estas pruebas, entre tantas están las pantallas de células reactivas conocidas como I y II otras como I- II y III, correlacionar una misma muestra de suero o plasma con estos dos medios de evaluación, es el propósito de estudio para garantizar los resultados para prevenir en el paciente o usuario reacciones antígeno anticuerpo in vivo y asegurar ya sea la transfusión o tratamiento feto materno.

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.

¿Se mejora la calidad de la prueba antiglobulínica indirecta al correlacionar sus resultados cuando se emplea pantallas I – II con pantallas I – II y III. ?

1.3 OBJETIVOS.

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Correlacionar los resultados de la prueba antiglobulínica indirecta mediante el uso de pantallas I y II con pantallas I – II y III, para identificar anticuerpos inespecíficos en muestras de sangre de usuarios atendidos en el servicio de medicina transfusional del H.P.G.D.R. Durante el periodo Junio a Noviembre de 2013”.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- ❖ Identificar fenotipos mayores y menores del sistema Rh mediante la técnica de tipificación sanguínea directa para relacionar al anticuerpo irregular más frecuente que se pueda encontrar.
- ❖ Valorar los resultados de coombs directo, para relacionarlos con los resultados de la prueba antiglobulínica indirecta
- ❖ Validar ensayos de las pruebas antiglobulínica directa con pruebas antiglobulínicas indirectas mediante el uso de células reactivas I -II con I-II y III para garantizar resultados en su calidad tiempo y economía.
- ❖ Relacionar resultados de las pantallas I - II y III con el multipanel para garantizar resultados.

1.4 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA.

Las células sanguíneas hematíes, leucocitos y plaquetas, poseen en su membrana proteínas o polisacáridos que pueden actuar como Ag y provocar la formación de Ac en las personas que carecen de ellos.

A este evento se le denomina aloinmunización antieritrocitaria en caso de Ac contra Ag eritrocitarios o antiplaquetaria en caso de Ac contra Ag de las plaquetas. Los Ac pueden aparecer de forma natural como son los Ac contra Ag del sistema AB0, que aparecen en todos los individuos o provocados por transfusión o embarazo.

Aunque generalmente es la destrucción de las células transfundidas por los Ac del receptor lo que causa problemas más graves en determinadas ocasiones también puede tener importancia la presencia de Ac del donante, como se da en el caso de transfusiones de PFC o crioprecipitados incompatibles AB0 entre receptor y donante. Las consecuencias clínicas de la aloinmunización dependen del tipo de Ac (IgG o IgM) del título del mismo así como de la célula destruida.

Los Ac eritrocitarios producen reacción hemolítica inmediata grave (Ac AB0) menos grave o retardada (Ac frente a otros Ag) y la enfermedad hemolítica del recién nacido.

La utilidad de esta prueba es amplia sus resultados deben ser precisos , oportunos, por ello se propone, correlacionar los resultados con las células reactivas que proyecten un apoyo verdadero en el diagnóstico y tratamiento de la reacción antígeno anticuerpo eritrocitario, en las clínicas que ameriten transfusiones de sangre y sus derivados o en pacientes gestantes para prevenir enfermedades hemolíticas.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO.

2.1 POSICIONAMIENTO PERSONAL.

La teoría del conocimiento es lo que conlleva al trabajo de esta investigación en el cual se elabora basado del conocimiento del pragmatismo considerado la relación teórica de inmunohematología y práctica como la utilización de reactivos técnicas, ensayos de células para alcanzar los objetivos finales de este proceso investigativo, todo ensayo de laboratorio en medicina transfusional, relaciona el sustento científico con los aportes prácticos.

2.2 FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.

2.2.1. ANTÍGENOS

2.2.1.1. CONCEPTO

Se llama antígeno o inmunógeno a todas las moléculas capaces de inducir una respuesta inmune, pudiendo reaccionar con los anticuerpos formados. Suelen ser moléculas de gran tamaño, generalmente de estructura proteica con varios epítopo o fragmentos que son reconocidos específicamente por los anticuerpos.



Figura N° 1. Esquema de antígeno

Fuente: <http://www.gramatica-alemana.es/kurze/anticuerpos-contra-el-vih.jpg>

La parte del antígeno que se une a estos receptores se llama determinante antigénico o epítipo. Un antígeno puede ser una proteína, polisacárido, lípido o ácido nucleico, o una combinación de éstos puede ser soluble o insoluble simple o complejo, y poseer determinantes antigénicos diferentes, como ocurre en las bacterias. Aunque un antígeno puede tener muchos determinantes antigénicos distintos, cada uno constituido por un pequeño número de aminoácidos o residuos de carbohidrato, la respuesta inmunitaria resultante puede dar lugar a la producción de anticuerpos que sólo reconocen unos cuantos de ellos. Así mismo, dos individuos pueden distinguir epítipo totalmente diversos, lo cual sugiere que su reconocimiento se encuentra bajo control. (<http://www.esacademic.com/dic.nsf/eswiki/990503>)

2.2.1.2 PROCESAMIENTO DEL ANTÍGENO

En general las proteínas son los únicos elementos capaces de generar una respuesta inmunitaria y para lograrlo requieren un procesamiento por las células auxiliares, seguido de la presentación en su membrana, asociadas con moléculas del (MHC) lo anterior está determinado por la forma en que el antígeno ingresa en la célula. Así los antígenos exógenos producidos fuera de la célula del hospedador entran en la célula por endógenos o fagocitosis, donde la célula presentadora del antígeno (macrófago, células dendríticas y linfocito B) los degrada en fragmentos peptídicos mediante un procesamiento que lleva a cabo por la vía endocítica.

2.2.1.3 ANTIGENICIDAD

El concepto de antigenicidad guarda relación con la capacidad de un antígeno de ligarse específicamente a una molécula del anticuerpo.

Cualquier tipo de molécula biológica incluso metabolitos intermediarios simples, azúcares, lípidos, hormonas y macromoléculas (como carbohidratos complejos, fosfolípidos, ácidos nucleicos y proteínas) puede funcionar como antígeno. (VILLA. Ángel, págs. 12-14,16)

2.2.1.4 ANTÍGENOS DEL SISTEMA RH

El sistema Rh es enormemente complejo su existencia se descubrió casi 40 años más tarde que el sistema ABO. Fueron dos investigadores independientes los que pusieron en evidencia este sistema por un lado Levine y Stetson en 1939 descubrió la aparición de un anticuerpo desconocido en el suero de una mujer que había dado a luz a su segundo hijo ,el niño nació muerto , y que desarrollo una reacción hemolítica transfusional . En 1940 Landsteiner y Wiener, aislaron un anticuerpo que se formó en los conejos y cobayas al inyectarle sangre del mono *Macacus Rhesus*.

El primer antígeno humano del sistema Rh que se descubrió es el D los individuos que poseen este antígeno en la superficie.

De los hematíes se dice que son Rh positivos aquellos que no poseen, se dice que son Rh negativos. Se considera que son lipoproteínas presentes en la membrana eritrocitaria. El funcionamiento de esta membrana, ya que los individuos que no poseen antígenos Rh en los hematíes presentan anemia hemolítica por fragilidad de los eritrocitos. La complejidad del sistema Rh radica en el gran polimorfismo de sus antígenos ya que existen múltiples variantes de los antígenos correspondientes a los locus D, C y E.(*GARCÍA ed.Segunda; España; pp.231-333*)

2.2.1.5 TEORÍA DE FISHER – RACE

Fisher, trabajando con los datos serológicos de Race, postuló la existencia de tres locus muy cercanos entre sí en el cromosoma uno que se transmiten conjuntamente.

Estos locus se denominaron D, C y E; y cada uno de ellos tiene un alelo denominado como d, c y e.

El gen de cada locus da lugar a la producción de un antígeno en la superficie del hematíe. Dado que no se ha encontrado el anticuerpo contra el antígeno d se ha llegado a la siguiente conclusión: el gen d es silencioso o nulo, y no da lugar la formación de ningún antígeno.

En el Ag hay regiones Inmunodominantes a las que se unen la mayoría de los Ac. Estas regiones se localizan en la zona externa del Ag como las asas peptídicas que carecen de estructuras rígidas. También se han encontrado estas características en zonas móvil donde existe una cierta flexibilidad del epítipo y las regiones CDR del Ac pueden alcanzar la energía óptima de unión. Sitios de Unión antígeno-anticuerpo, unión no covalente es reversible pero de alta afinidad. Localización: Regiones hipervariables del fragmento Fab.

1. Mayor variación entre distintos anticuerpos.
2. Los cambios en su secuencia alteran la especificidad de unión.
3. Forman lazos extendidos expuestos en la superficie del anticuerpo (estudios de difracción de rayos X).
4. Los residuos aminoácidos de las regiones hipervariables están en contacto con el antígeno. (GARCÍA. Benjamín, págs. 241-247)

2.2.1.8 FUNCIONES

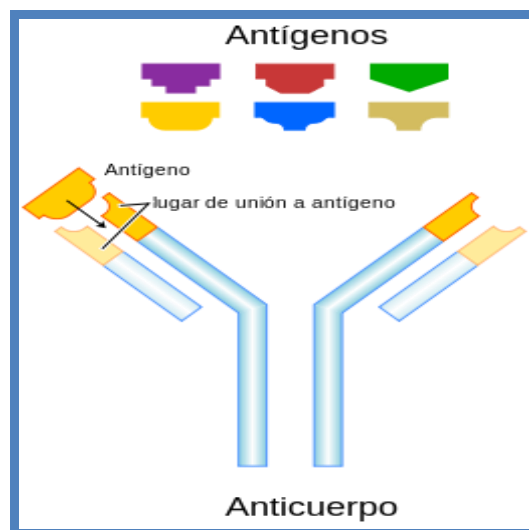


Figura N° 3. Función de un antígeno
Fuente: <http://www.wikipedia.org/wiki/Ant%C3%ADgeno>

Cada antígeno está definido por su anticuerpo, los cuales interactúan por complementariedad espacial. La zona donde el antígeno se une al anticuerpo recibe el nombre de epítipo o determinante antigénico, mientras que el área correspondiente de la molécula del anticuerpo es el paratope.

Una vez ocurrido el contacto inicial con un antígeno determinado, los sucesivos encuentros con el mismo antígeno se van a caracterizar por obtener una respuesta mucho más rápida y enérgica que la inicial, debido a que esta da lugar a la producción de linfocitos T y B de memoria. Los anticuerpos se unen a los agentes patógenos o antígenos en el espacio extracelular, y aseguran la protección del organismo mediante tres procesos:

1. Pueden neutralizar al patógeno o sus productos tóxicos adhiriéndose a ellos e impidiendo la infección o la toxicidad.
2. Pueden facilitar la captura de los patógenos por las células fagocíticas (Opsonización).
3. Pueden activar el sistema de complemento, constituido por una serie de proteínas plasmáticas que ayudan a los fagocitos a ingerir y destruir las bacterias.

Todos los patógenos y partículas extrañas unidas a anticuerpos finalizarán en poder de los fagocitos que los destruirán. El sistema de complemento y los fagocitos no reconocen al antígeno, son los anticuerpos los que les señalan su existencia. Como consecuencia de la presentación de antígenos a las células T, las CPA causan:

- ❖ Activación de linfocitos T vírgenes con expansión clonal y diferenciación en células efectoras, representadas por lo general por células dendríticas.
- ❖ Activación de la inmunidad celular: macrófagos y linfocitos T efectores.
- ❖ Activación de la respuesta humoral por estimulación de linfocitos B y la producción de anticuerpos. (*GUILLERMO J. Ruiz; pp 60-62*)

2.2.1.9 CLASIFICACIÓN

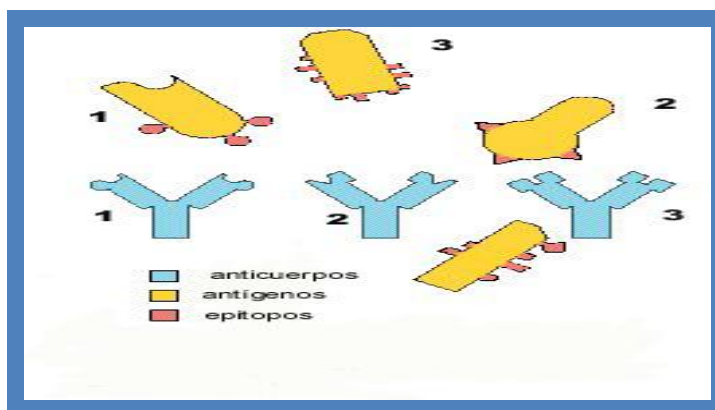


Figura N° 4. Antígeno frente a un anticuerpo y sus Epítopos

Fuente: http://www.google.com.ec/imgres?q=antigeno+exogeno&um=1&sa=X&hl=es-419&biw=1135&bih=442&tbn=isch&tbnid=zaoyOigRaTe_tM:&imgrefurl=http://mesa8labd.blogspot.com/2009/03/antigeno-

2.2.1.9.1 Exógenos:

Los antígenos exógenos son antígenos que han entrado al cuerpo desde el exterior, por ejemplo mediante inhalación, ingestión o inyección. Estos antígenos son tomados en las células presentadoras de antígenos mediante endocitosis o fagocitosis, (CPAs) y procesados en fragmentos. Las CPAs entonces presentarán esos fragmentos a linfocitos T.

2.2.1.9.2 Xenógeno o Heterólogo:

Dentro de este grupo encontramos a los xenoantígenos o heteroantígenos, que son aquellos que se encuentran en diferentes especies animales, incluyendo al hombre. El antígeno de Forssman que no lo tiene el hombre pero si otras especies inferiores de animales. Dentro de estos xenoantígenos se encuentran antígenos tisulares establecen también reacción cruzada.

Alógenos u homólogos, aquí se encuentran los tipos aloantígeno o isoantígeno estos son antígenos que se encuentran en la misma especie, pero en diferentes individuos, el antígenos de los grupos sanguíneos, así el antígeno A y el antígeno B son aloantígenos. Los antígenos de histocompatibilidad de enfermedades que se puedan dar son: enfermedad hemolítica del recién nacido, reacciones de transfusión, inmunidad de trasplantes. (<http://mezizadoz2.blogspot.com/2009/04/resumen-de-antigeno.html>). (s.f)

2.2.2 Antígenos de significado clínico

Antígenos Rh y sus subunidades. El antígeno Rh (D).- Se reconoció mediante cuidadosa observación clínica y experimentación animal. El primer suero anti- Rh se obtuvo de conejos inyectándole eritrocitos de mono rhesus. Con este suero Landsteiner y Wiener vieron que el 85% de la población reaccionaba positivamente y el 15% restante negativamente. A partir de entonces el término “Rh” se empleó para designar el antígeno descubierto. Además de los antígenos A y B, el Rh (D) es el más antigénico. Cerca de los dos tercios de personas Rh(D)-negativas (-) que reciben sangre Rh(D)-positiva (+) es probable que desarrollen anti- Rh(D). Por esta razón se determina el antígeno Rh (D) de cada donante de sangre, además de los antígenos A y B.

Los resultados de la determinación de D no están siempre claros, algunos antígenos D solo se pueden detectar mediante la prueba de antiglobulina y de denominan Du. (<http://mezzadoz2.blogspot.com/2009/04/resumen-de-antigeno.html>. (s.f.)

2.2.2.1 Antígenos C , c y E , e.

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

Raras excepciones son producidas por el complejo génico DC , en el cual están ausentes los antígenos E y e. Como quiera que DcE y DcE son fenotipos corrientes, anti-CE y anti-Ce son anticuerpos corrientes formados por las personas que tienen el fenotipo opuesto. En la práctica anti-e y anti-C suelen ser débiles y de demostración menos fácil. Debido a la evidencia serológica se puede considerar que los antígenos E y e están cerca de los genes responsables de los antígenos C y c, más que de los genes del antígeno D.

La expresión lógica del complejo de genes debería ser DCE en lugar de CDE.

2.2.2.3 Antígenos D parciales

En individuos normales el antígeno D es un mosaico de subunidades que se encuentra presente en su totalidad o ausente si el paciente es Rh negativo. Sin embargo ocurre en ocasiones que la persona es D positivo, pero le falta alguna parte de ese mosaico de manera que puede inmunizarse contra esa parte en caso

de recibir una transfusión o por contacto feto materno. Se producirán anticuerpos capaces de reaccionar contra los hematíes del donante y dará una impresión falsa de auto – anticuerpo anti – D.

2.2.2.4 Otros antígenos

Se producen antígenos extra como resultado de la cooperación de los genes vecinos. Es el caso del antígeno f o ce, que da lugar a un anticuerpo muy potente, que en algunos casos ha sido responsable de la enfermedad hemolítica del recién nacido. También encontramos el antígeno G, que está presente en todos los hematíes D o C positivos y es capaz de producir un anticuerpo específico anti – G.

2.2.2.5 Antígenos ausentes.

Son los casos en los que existen haplotipos silenciosos, donde no se produce ninguno de los antígenos del sistema Rh. Su genotipo sería ----/-----. En otros casos es parcialmente silencioso y faltan los antígenos EeCc, pero sí producen antígeno D. Su genotipo sería D----/D----. (GARCÍA. Benjamín, pág. 230)

2.3. ANTICUERPOS

2.3.1. CONCEPTO:

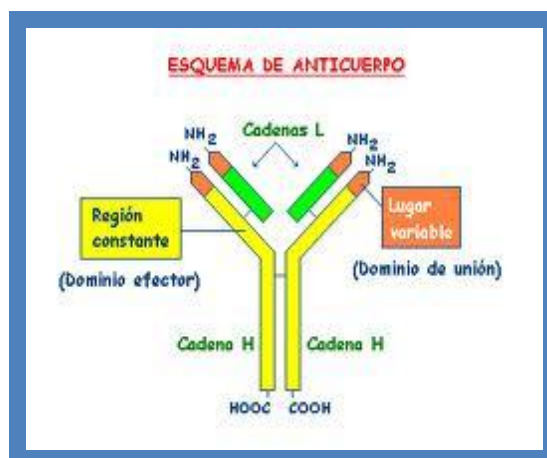


Figura N° 5. Esquema de antígeno

Fuente:http://www.google.com.ec/search?q=ANTICUERPO&rlz=1R2RNMZ_esEC545&bav=on.2,or.r_qf.&bvm=bv.49478099,d.dmg,pv.xjs.s.

Los anticuerpos (Ac) también conocidos como inmunoglobulinas, son glicoproteínas que forman el organismo como respuesta al contacto con un antígeno y que reaccionan específicamente. La síntesis de los anticuerpos se produce en los linfocitos B que al entrar en contacto con el antígeno Ag se activan transformándose en las células plasmáticas.

2.3.2 IMPORTANCIA DE LOS ANTICUERPOS EN PATOLOGÍA

1. La presencia de anticuerpos específicos protege contra agentes patógenos a los que reaccionamos en el pasado.
2. Su falta provoca inmunodeficiencia. Incluso deficiencias de algún isotipo (IgA) o déficits cuantitativos pueden comprometer la inmunocompetencia.
3. La presencia de autoanticuerpos de isotipo IgG contribuye a la autoinmunidad respuesta cruzada.
4. La presencia de IgE alérgeno específica contribuye a las enfermedades alérgica

2.3.3 ESTRUCTURA

Todas las moléculas de inmunoglobulina presentan un patrón estructural común consistente en una unidad básica de cuatro cadenas: dos cadenas pesadas idénticas (cadenas H) y dos cadenas ligeras también idénticas (cadenas L), unidas entre sí por enlaces disulfuro, (las dos cadenas H unidas entre sí y cada cadena H con una cadena L). La molécula adopta la configuración especial en forma de Y, cada brazo de la Y está formado por la mitad de cada cadena H y una cadena L entera y el tronco está integrado por la mitad de las dos cadenas H. Los brazos de la Y están dotados de cierto grado de movilidad y la zona de las cadenas H sobre la que giran se denomina región bisagra y se corresponde con la zona por donde esas cadenas H se unen entre sí mediante los enlaces disulfuro. (<http://www.biblioteca.ucm.es/tesis/19911996/D/2/AD2007001>)

2.3.4 FUNCIONES

La función primaria de las inmunoglobulinas es la de ser anticuerpos al unirse de forma específica (complementaria) al antígeno, función que radica en la conjunción de las regiones VH-VL. La unión Ag/Ac indica que el sitio de unión al

antígeno es una cavidad o hendidura, dentro de la cual encaja de forma complementaria la superficie del epítipo o determinante antigénico (parte o región de la molécula antigénica a la que se une, y que las paredes de la cavidad que establecen contactos directos con el antígeno son las regiones hipervariables o CDR, particularmente la CDR3, de ambas regiones VH y VL. Si bien las regiones FW no contactan con el antígeno, su integridad es esencial para mantener la configuración tridimensional integridad del sitio de unión al Ag. Por otro lado, las regiones C del extremo Fc condicionan una serie de reacciones moleculares y celulares, denominadas funciones efectoras que tienen gran trascendencia biológica porque determinan las consecuencias que tendrá para el organismo la unión del anticuerpo con el antígeno y para la destrucción o eliminación de éste. Dichas funciones efectoras incluyen la capacidad de:

1. Activar el complemento.
2. Unirse a la membrana de otras células (monocitos, macrófagos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos, mastocitos y otras células, incluidos los propios linfocitos B y T, a través de su fijación a receptores para el Fc presentes en su membrana.
3. Atravesar la placenta.
4. Si el anticuerpo es capaz de unirse con alta afinidad a receptores Fc presentes en la membrana de los basófilos y mastocitos, como ocurre con la IgE.

2.3.5 CLASIFICACIÓN:

Hay cinco clases distintas de inmunoglobulina IgG, IgA, IgM, IgD e IgE (según el orden de mayor a menor concentración sérica) con cuatro subclases de IgG (IgG1-

4) y dos subclases de IgA (IgA1-2). Estas clases y subclases están determinadas por las diferentes clases y subclases de cadenas H, las cuales se designan con la correspondiente letra griega minúscula: g1-4, a1-2, m, d y e. En cambio sólo hay dos tipos de cadenas ligeras designadas k y l. Por tanto cada clase y subclase de inmunoglobulina puede ser bien de tipo k bien de tipo l. En el hombre la proporción de inmunoglobulina de tipo k predomina sobre la de tipo l, en una relación aproximada.

Las clases y subclases de inmunoglobulina difieren no sólo en la estructura primaria (secuencia de aminoácidos) de sus cadenas H, sino también en el grado de polimerización (dímeros en el caso de la IgA, pentámeros en el caso de la IgM) de la estructura básica, en el número de enlaces disulfuro entre cadenas H y en el grado de glicosilación. (<http://www.vigilanciasanitaria.es/.../tesis/Aplicacion-de-los-anticuerpos>)

2.3.5.1 Inmunoglobulina (IgG)

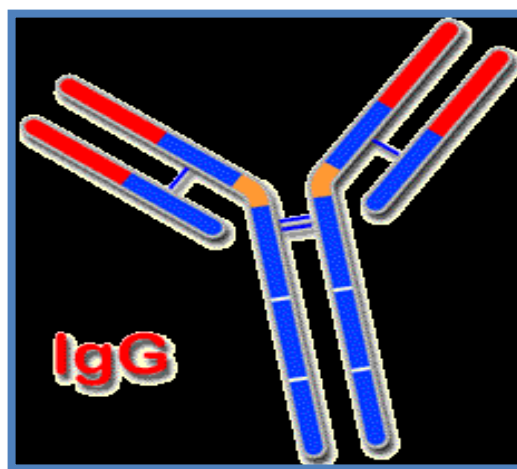


Figura N° 6. Inmunoglobulina G (IGG)
Fuente: <http://www.sanidadanimal.info/cursos/inmuno2/images/4igg.gif>

La molécula de la IgG tiene una estructura monomérica, constituida por dos cadenas H y dos cadenas L. la IgG es la inmunoglobulina mayoritaria en el suero de los mamíferos y representa aproximadamente el 75 % del total de las inmunoglobulinas circulante. Existen cuatro subclases distintas de IgG humana (IgG1, IgG 2, IgG3, IgG4) y que constituyen el 70, 20, 8, y 2 % respectivamente,

de la IgG total. Los dominios constantes de las cuatro subclases de la IgG tienen una homología de aproximadamente el 95%.

La IgG tiene un peso molecular aproximado de 150 kDa y una concentración elevada en el suero (10 mg/ml), siendo escasa en las secreciones. Su vida media es de aproximadamente veinte días. El contenido en carbohidratos es bajo (2%) estando localizados en los dominios CH2 y unidos a través de enlaces N-glucosídicos. Los puentes disulfuro-intecatenarios varían en número y localización según las subclases, lo que provoca diferencias estructurales que influyen en la conformación de la molécula y en sus actividades biológicas, en aquellas que dependen del fragmento Fc. El fragmento Fc de las IgG puede unirse a receptores que se encuentran en la membrana de diversos tipos celulares. La conformación del dominio CH2 se ve favorecida por la presencia de carbohidratos, esenciales para algunas actividades biológicas de la molécula, como su capacidad para activar el sistema de complemento.

(<http://www.inmunologiaenlinea.es>)

2.3.5.2 Inmunoglobulina (IgM)

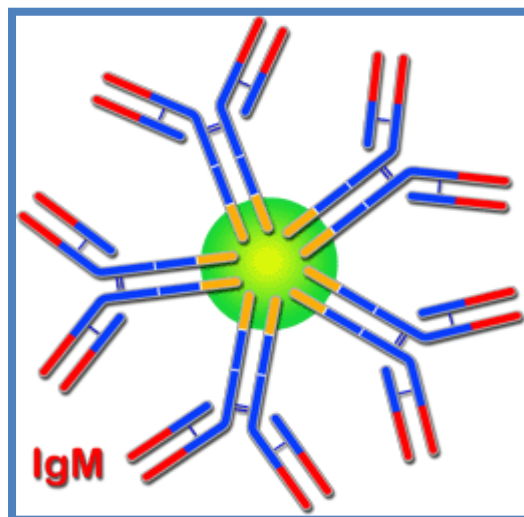


Figura N° 7. Inmunoglobulina G (IgM)

Fuente: <http://www.sanidadanimal.info/cursos/inmuno2/images/4igm.gif>

La molécula de IgM tiene una estructura pentamérica formada por cinco monómeros de cuatro cadenas cada uno (dos cadena H y dos cadenas L), lo cual proporciona a cada molécula diez sitios de reconocimiento antigénico. Algunos

autores han propuesto un ensamblaje con una estructura de hexámero y doce centros de reconocimiento. Cuando la molécula reacciona con antígenos pequeños (haptenos), estos pueden unirse a casi todos los sitios de reconocimiento de la IgM. En cambio cuando el antígeno tiene mayor peso molecular, solamente puede unirse a cinco o menos paratopos en cada molécula la IgM tiene un peso molecular elevado de 970 kDa.

Cada monómero tiene un peso molecular aproximado de 180 kDa. Su concentración en suero es de 1.5 mg/ml. Tiene un contenido elevado de Carbohidratos, aproximadamente de 10 a 12 %, que están distribuidos en los diferentes dominios constantes de las cadenas H. Las cadenas pesadas de la IgM tienen un dominio más que las cadenas pesadas de la IgG y no poseen una región bisagra flexible como la IgG.

Las IgM representan la clase de anticuerpos predominante durante la respuesta primaria y constituyen la mayoría de los anticuerpos naturales contra numerosos microorganismos. Los anticuerpos de esta clase resultan muy eficientes para activar el sistema de complemento por la vía clásica. (<http://www.inmunologiaenlinea.es>)

2.3.5.4 Inmunoglobulina (IgA)

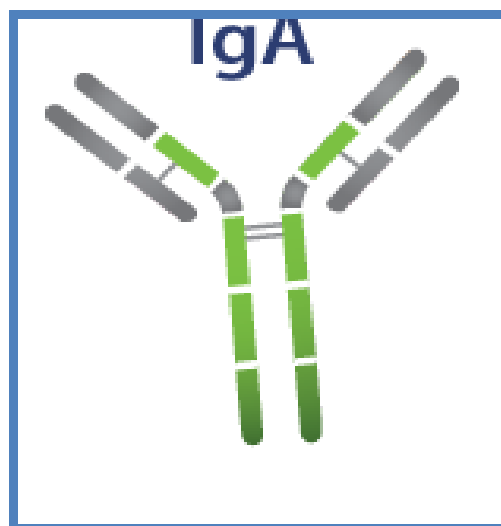


Figura N° 8. Inmunoglobulina G (IGA)

Fuente:<http://www.aGtualidadavipecuaria.com/img/public/contenido/image/imagen-sharmatransferencia.jpg>

La molécula de IgA puede encontrarse como monómero, dímero o polímero. En el suero predomina la forma monomérica, mientras que en las secreciones es más

frecuente encontrar los dímeros. Se han descrito dos subclases de IgA: IgA 1, que predomina en el suero (80% del total de IgA) e IgA2, resistente a la digestión por las enzimas de los microorganismos comensales que es la forma predominante en las secreciones por ello es la inmunoglobulina más abundante en las secreciones. La presencia de esta inmunoglobulina en el calostro representa una fuente de anticuerpos para el recién nacido. En las mucosas la IgA participa como una barrera que limita la absorción de antígenos solubles y reduce la invasividad de los microorganismos. (http://www.esacademic.com/dic.nsf/es_mediclopedia/26709/antiglobulina)

2.3.5.5 Inmunoglobulina (IgE)



Figura N° 9. Inmunoglobulina G (IGE)
Fuente: <http://www.med.unne.edu.ar/catedras/fisiologiaI/ige.htm>

La molécula de IgE tiene una estructura monomérica con un peso molecular de aproximadamente 188 kDa. Su contenido de carbohidratos es elevado (12%) y están unidos a tres primeros dominios constantes de la cadena H.

Su concentración en el suero es muy baja (30 ug/ml), la mayoría unida a mastocitos y basófilos. La vida media de la IgE es de aproximadamente dos días; La IgE al igual que la IgM, tiene las cadenas polipeptídicas H más largas porque contiene un cuarto dominio en la región constante, a diferencia de las cadenas H de las IgG, A y D que solo tienen tres dominios C. La molécula de IgE no tiene región bisagra y es una de las inmunoglobulinas menos flexibles. Son los anticuerpos responsables de las reacciones de hipersensibilidad tipo I.

2.3.5.6 Inmunoglobulina (IgD)

La molécula de IgD es un monómero con un peso molecular de 184 kDa.

Es una molécula rica en carbohidratos entre 9-14% y al igual que la IgA1, contiene múltiples oligosacáridos con enlace tipo N. Su vida media es muy corta, de aproximadamente 2 - 8 días. En condiciones normales no se secretan y se localizan en la superficie de los linfocitos B. Su significado biológico no ha sido aclarado completamente lo mismo que la especificidad de sus sitios activos.

2.3.6 Aloanticuerpos.

La presencia de aloanticuerpos frente a los antígenos eritrocitarios exige que para efectuar una transfusión se elija una sangre negativa con respecto al antígeno específico presente.

La identificación de aloanticuerpos y la selección de sangre compatible es una de las principales funciones de un servicio de transfusiones. Los aloanticuerpos para los eritrocitos pueden ser:

- 1) De presencia natural es decir los estímulos antigénicos son desconocidos.
- 2) Un resultado de inmunización por transfusión.
- 3) Inducidos por eritrocitos fetales durante el embarazo o en el momento del parto.

Algunos anticuerpos presentes naturalmente aparecen de forma regular en personas que carecen del antígeno correspondiente, como el anti-A en el grupo B, el anti-B en al grupo A, el anti-A, B. Otros anticuerpos naturales pueden aparecer tan solo en un cierto porcentaje de la población que carece del respectivo antígeno. Las pruebas de compatibilidad sistemáticas (pruebas cruzadas) indican que no existe incompatibilidad detectable entre el donante y el receptor.

2.3.6.1 Autoanticuerpos.

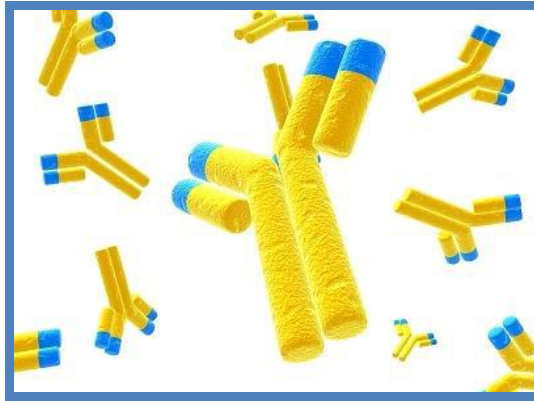


Figura N° 10. Autoanticuerpos

Fuente: http://hablemosdesalud.com.mx/Data/Sites/1/GalleryImages/FullSizeImages/guias/estudios/anticuerpo_2.jpg

El término Autoanticuerpos se usa para designar todo anticuerpo que reaccione con el antígeno hallado en el mismo sujeto que produce aquel. Además reacciona con el mismo antígeno hallado en otros individuos normales.

Los resultados de la reacción antígeno-anticuerpo pueden consistir en anemia hemolítica, leucopenia y trombopenia pero frecuentemente los autoanticuerpos no dan lugar a síntomas clínicos manifiestos. Si se usan los adecuados reactivos para valorar un autoanticuerpo frente a los hematíes, la prueba de antiglobulina directa suele ser positiva mientras que la prueba de antiglobulina indirecta puede ser o no. De acuerdo con la temperatura óptima de reacción, se clasifican los anticuerpos en dos categorías: los fríos (generalmente IgM) y los calientes (por lo general IgG). Entre los anticuerpos productores de anemia cerca del 15% pertenecen a las categorías de los fríos y el 85% restantes son de la variedad caliente.

2.4 ANTICUERPOS SISTEMA RH.

A diferencia de los anticuerpos del sistema ABO, los anticuerpos que se producen frente a los antígenos del sistema Rh son de carácter inmune, es decir, se necesita una estimulación previa para su aparición en la sangre. Esta estimulación puede producirse por una transfusión o por contacto feto- materno.

Debido a que el antígeno de mayor poder inmunógeno es el D, el anticuerpo que encontramos con mayor frecuencia es anti -D aunque también tiene importancia los otros anticuerpos. Por ejemplo el autoanticuerpo anti -e suele estar implicado en la mayor parte de los caso de anemia hemolítica autoinmune.

2.4.1 ANTICUERPOS NATURALES.

Presentes en el suero de un sujeto sin contacto previo con el Ag. Los más conocidos son los Ac del Sistema ABO, La mayor parte de ellos son del tipo IgM (no atraviesan placenta), generados en la sustancias de origen bacteriano o vegetal de composición química semejante a los Ag de grupo, anticuerpos adquiridos, Presentes en el plasma de un sujeto que tuvo contacto previo con el Ag. La mayor parte de ellos son del tipo IgG (atraviesan placenta).

2.4.2 ANTICUERPOS INMUNES

Aparecen después de una estimulación antigénica y suelen ser IgG. Son frecuentemente aglutininas incompletas, de menor tamaño que las IgM , y atraviesan sin dificultad la barrera placentaria.

2.4.3 ANTICUERPOS IRREGULARES

Denominados anticuerpos irregulares aquellos que se encuentran con poca frecuencia en el plasma. Normalmente son anticuerpos calientes, que actúan solamente a temperatura corporal y debe ser detectado en el laboratorio a 37⁰C.

Para estos anticuerpos se realiza la prueba indirecta de la antiglobulina, ponemos en contacto el suero del receptor con hematíes reactivos, que expresan los anticuerpos más habituales de los grupos sanguíneos. A ser posible estos hematíes serán homocigóticos, evitando así que sean poco reactivos y nos den falsos negativos. (ORTIZ Gil, págs. 67-70).

La incidencia de estos anticuerpos irregulares se ha calculado entre un 0.3 a 2 % dependiendo del grupo de individuos examinados y de las técnicas utilizadas para la investigación de anticuerpos irregulares nos sirve para:

- 1.** Aclarar discrepancias séricas en el sistema ABO.
- 2.** En mujeres embarazadas, para detectar anticuerpos que puedan causar enfermedad hemolítica del recién nacido o discrepancias en la prueba cruzada para el momento del parto, en caso de que la paciente requiera ser trasfundida.
- 3.** En el estudio de reacciones hemolíticas transfusionales.
- 4.** En el estudio de anemias hemolíticas autoinmunes.

Por lo tanto los anticuerpos irregulares se encuentran como hemolizantes, aglutinantes y sensibilizantes. Aquellos anticuerpos llamados irregulares como Lea, Anti P, Anti M, no están relacionados ni con transfusiones ni con embarazos, en cambio los llamados irregulares inmunes como el anti D, anti C, anti F, sí lo están.

La presencia de anticuerpos irregulares se evidencian a diferentes temperaturas in Vitro y pueden requerir para su observación sustancias que favorezcan su demostración como medios de alta concentración proteica, medios enzimáticos, de baja fuerza iónica, con la prueba de la antiglobulina indirecta o suero de Coombs. (GARCÍA. Benjamín, págs. 233-252)

2.5 REACCIÓN ANTÍGENO ANTICUERPO.

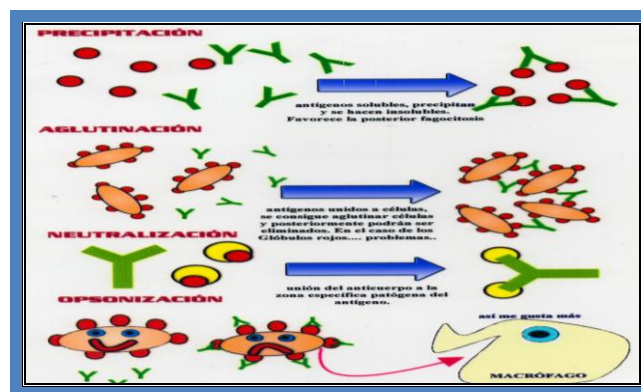


Figura N° 11. Reacciones antígeno anticuerpo

Fuente: <http://www.lourdesluengo.es/unidadesbio/inmunologia/transparencias/inmuno4.jpg>

La unión del anticuerpo (Ac) y el antígeno (Ag) se realiza por la parte de la molécula de Ig conocida como región convinante, localizada en las regiones variables. Las regiones hipervariables son las que contactan con el antígeno, siendo el resto de las regiones variables esenciales en el mantenimiento de la integridad de la región convinante.

La unión del antígeno y el anticuerpo se produce por la formación de enlaces no covalentes entre el antígeno y los aminoácidos constituyentes de la región convinante. Las fuerzas de unión las llamadas interacciones inespecíficas entre las proteínas son: Electrostáticas: fuerza de atracción entre las moléculas de antígeno y anticuerpo que presentan una carga neta opuesta. Puede ser una fuerza importante en ocasiones.

A la fuerza de unión entre el antígeno y el anticuerpo se llama afinidad, término que se utiliza para la definición de la fuerza individual entre un determinante antigénico y un sitio convinante del anticuerpo. Los anticuerpos son potencialmente multivalentes (dos sitios de unión para el antígeno) y los antígenos tienen más de un determinante antigénico. A la fuerza de unión de un anticuerpo multivalente a un antígeno multivalente se le denomina avidéz, la avidéz de un anticuerpo por su antígeno es dependiente de las afinidades individuales, pero es mayor que la suma de ellas consideradas individualmente.

En las reacciones antígeno anticuerpo se distinguen dos fases: la primera consiste en la unión del antígeno con el anticuerpo respectivamente determinante antigénico y sitio activo que al unirse forman un complejo antígeno-anticuerpo, la segunda en las manifestaciones que resultan de dicha unión. Por consiguiente existen factores externos que pueden modificar dicha unión como son: el pH, la temperatura y la fuerza iónica (MADIGAN.Martingo, págs. 2-3)

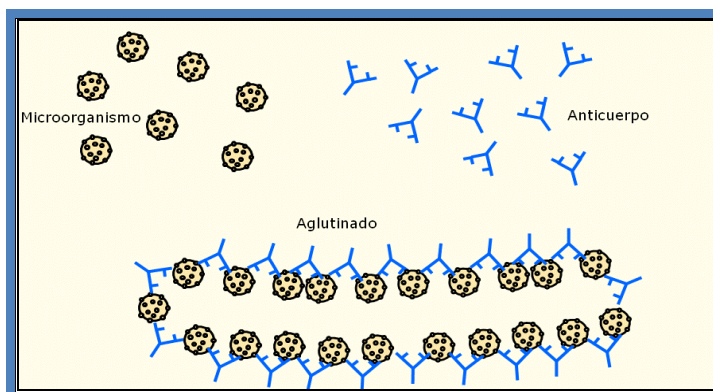


Figura N° 12. Unión de antígeno anticuerpo
Fuente:<http://www.lourdesluengo.es/unidadesbio/inmunologia/transparencias/inmn>
Interacción primaria antígeno-anticuerpo

Estos enlaces genera la suma de estas fuerzas de atracción y de repulsión se conoce como afinidad del anticuerpo. Estas fuerzas son inversamente proporcionales a una potencia de la distancia entre los grupos interactuantes, lo que implica que epitope y paratope deben presentar estructuras complementarias para obtener una energía de unión suficiente como para resistir la disrupción termodinámica. Los anticuerpos son moléculas multivalentes en su interacción con el antígeno. Las moléculas de inmunoglobulina presentan un máximo de 10 (IgM) y un mínimo de 2 brazos de unión con el antígeno.

Interacción secundaria antígeno-anticuerpo.

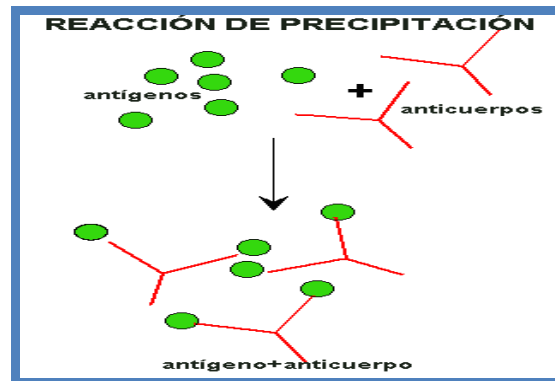


Figura N° 13. Reacciones secundaria antígeno-anticuerpo
Fuente: <http://reaccionantigeno-anticuerpo.blogspot.com>

Los complejos iniciales que se forman rápidamente sobre los que dentro de ciertos límites las variaciones de temperatura y concentración salina tienen poca influencia, se agregan luego para dar diferentes fenómenos visibles cuyas características dependen en gran parte del estado físico del antígeno. Esta etapa se acelera con la temperatura la agitación y es electrolito dependiente. (Madigan M.T.Martingo, págs. 3-4)

2.6 TRANSFUSIÓN DE SANGRE

Refiere que es un proceso por el que se introduce la sangre de un donante en la corriente sanguínea. Es una modalidad terapéutica muy eficaz en situaciones de shock, hemorragias o enfermedades de la sangre, se utiliza con frecuencia en intervenciones quirúrgicas, traumatismos, hemorragias digestivas o en situaciones en que haya una pérdida importante de sangre. Un tratamiento que involucra la recepción de productos sanguíneos (glóbulos rojos, glóbulos blancos, plaquetas, plasma o sangre) a través de la vena. Los componentes sanguíneos pueden provenir de un donador sin parentesco o pueden haber sido almacenados por adelantado por el receptor

Razones para realizar el procedimiento

- ❖ Pérdida extrema de sangre y líquidos debido a una lesión, cirugía o enfermedad
- ❖ Anemia
- ❖ Inmunodeficiencia

- ❖ Leucemia
- ❖ Enfermedad autoinmunitológica o desórdenes del bazo, como resultado de la destrucción de células sanguíneas o médula de los huesos.
- ❖ Incompatibilidad de Rh en los recién nacidos

2.6.1 FACTORES DE RIESGO DE COMPLICACIONES DURANTE EL PROCEDIMIENTO

- ❖ Enfermedades cardíacas
- ❖ Condiciones o medicamentos que dan como resultado un daño del sistema inmunológico:
- ❖ Quimioterapia
- ❖ Cáncer
- ❖ SIDA
- ❖ Trastornos inmunológicos
- ❖ Uso regular de medicamentos esteroidales

Antes del procedimiento

Se le hará un examen sanguíneo para determinar su tipo específico de sangre a fin de que la sangre donada sea compatible con la suya. También se le practicará un examen físico y se registrará la base de sus signos vitales. Estos incluyen temperatura, ritmo cardíaco, ritmo respiratorio y presión arterial. Aunque la sangre es cuidadosamente compatibilizada antes de que se la proporcionen, algunas veces, se presentan incompatibilidades menores entre la sangre del donante y la del receptor y estos medicamentos le ayudarán a reducir las reacciones alérgicas menores.

Durante el procedimiento

Se instalará una vía intravenosa, con una bolsa de productos sanguíneos. Si es posible, la aguja de la vía intravenosa se colocará en su mano o brazo. (*ORTIZ Gil, Miguel Ángel, pp.250*)

2.6.2 DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO

Se coloca una aguja en una de sus venas. Se cuelga en una polea cercana una bolsa que contiene el producto sanguíneo y su contenido gotea lentamente, por vía intravenosa (a través de la vena) dentro del torrente sanguíneo.

Durante la transfusión, su temperatura, ritmo cardíaco, respiración y presión arterial, son revisados de manera regular y se le preguntará si siente dolor, picazón o incomodidad de cualquier tipo. Este monitoreo es más cuidadoso durante los primeros 15 minutos de la transfusión, dado que la mayoría de las reacciones ocurren en los primeros momentos de la transfusión.

Una vez que la bolsa que contiene los productos sanguíneos se haya vaciado, se le retirará la aguja del brazo.

Después del procedimiento

Se controlarán sus signos vitales, incluso la temperatura, el ritmo cardíaco, el ritmo respiratorio y la presión arterial. Su médico le dará instrucciones específicas basadas en la afección por la cual haya tenido que recibir la transfusión sanguínea, En algunos casos, tendrá que tomar un diurético ya sea después de la transfusión o entre las unidades sanguíneas.

Después del procedimiento, asegúrese de seguir las instrucciones del médico.

2.6.3 POSIBLES COMPLICACIONES

Se pueden producir reacciones alérgicas o reacciones debido a la falta de compatibilidad entre los tipos de sangre. Los síntomas incluyen:

- ❖ Fiebre y escalofríos
- ❖ Falta de aire
- ❖ Sibilancia
- ❖ Dolor en el pecho y/o en la espalda
- ❖ Náuseas y vómitos

- ❖ Urticaria
- ❖ Comezón
- ❖ Hinchazón
- ❖ Mareos
- ❖ Dolor de cabeza
- ❖ Espasmo muscular
- ❖ Sangre en la orina

Cuidado Pos-Operatorio

Se le realizarán exámenes sanguíneos para determinar la eficacia de la transfusión. El médico, basado en su afección, le hará sugerencias específicas observando las actividades que puedan comenzar después de la transfusión.

Resultado

El conteo de sangre, que mide los componentes sanguíneos específicos recibidos durante la transfusión, debería ser mejor.

2.6.4 TRES SITUACIONES CLÍNICAS EN LAS QUE ESTÁ INDICADA LA TERAPIA TRANSFUSIONAL.

1. Para mantener o restaurar un volumen adecuado de sangre circulante con el fin de prevenir o combatir el choque hipovolémico.
2. Para mantener y restaurar la capacidad de transporte de oxígeno de la sangre.
3. Para reponer componentes específicos de la sangre como proteínas plasmáticas o elementos formados (glóbulos rojos, plaquetas o leucocitos) cuyo déficit produce manifestaciones clínicas.

Para corregir estas demandas, el médico cuenta actualmente con una variedad de productos, como sangre total, concentrado de eritrocitos, plaquetas y granulocitos

y componentes y derivados plasmáticos todos estos conocidos como componentes de la sangre o hemoderivados, los cuales se detallaran a continuación.

2.6.5 MULTÍPARA

Una mujer que ha dado a luz más de una vez se denomina múltipara. Se habla de nulípara si no ha dado a luz, y de gran múltipara si ha tenido numerosos partos (más de cuatro o cinco). Si los embarazos y partos precedentes se han desarrollado normalmente, la multiparidad es un elemento muy favorable para el desarrollo del embarazo y del parto en curso, se dice que la pelvis ya ha pasado varias pruebas. En cambio, en la gran multiparidad el riesgo de complicaciones durante el parto aumenta: dilatación a menudo más lenta, presentación anormal del feto o hemorragia después del parto por la relajación del útero.

2.6.6 MEDIDAS DE SEGURIDAD

- ❖ No agitar la sangre porque se hemoliza.
- ❖ Los glóbulos rojos tienden a aglutinarse, por lo que debe homogenizarse moviéndola suavemente.
- ❖ No diluir la sangre.
- ❖ No administrar un producto sanguíneo hasta estar seguro de que éste corresponde a la identificación del paciente y a la prescripción médica.
- ❖ La solución dextrosa puede causar hemólisis, otras soluciones y medicamentos son incompatibles, únicamente la solución salina al 0.9% es compatible, por lo que se puede utilizar para purgar el equipo (cuando exista obstrucción).
- ❖ No administrar medicamentos simultáneamente con productos sanguíneos por la misma vía.
- ❖ Los productos sanguíneos deben administrarse en infusión rápida y no se recomienda que duren más de 4 horas instalados.
- ❖ El plasma debe administrarse en un lapso no mayor a 1 hora.
- ❖ La sangre debe dejarse 30 minutos a temperatura ambiente, antes de administrarse, ya que pierde propiedades si se le calienta, si esto no es posible, puede administrarse fría.

- ❖ Se vigila estrechamente al paciente con fiebre o signos de anafilaxia tomando signos vitales cada 15 minutos la primera hora y al finalizar la transfusión.
- ❖ Al terminar de pasar la sangre se debe conectar la solución de base.
- ❖ En los primeros 30 minutos de la transfusión, el ritmo de la infusión debe ser lento o si observa signos de incompatibilidad sanguínea, interrumpa de inmediato la transfusión.
- ❖ Al terminar la transfusión, continúe vigilando estrechamente al paciente por lo menos 2 horas más.
- ❖ Los productos sanguíneos deben administrarse con equipos que posean filtros sanguíneos para impedir el paso de posibles partículas o pequeños coágulos.
- ❖ No administrar la sangre en un refrigerador no aprobado por un banco de sangre.
- ❖ Corroborar fecha de caducidad del producto.
- ❖ Controlar niveles séricos de calcio. Las transfusiones múltiples implican un riesgo potencial de hipercalcemia, dado que el citrato fija al calcio.

La Medicina Transfusional Moderna

Está basada en la terapia por hemocomponentes, al que la caracterizan tres principios básicos: primero debe siempre identificarse la causa de la deficiencia, segundo solamente deberá administrarse el componente deficitario y tercero deberá existir la máxima seguridad en el producto sanguíneo y su administración. En un adulto la administración de una unidad de Sangre Total o una unidad de Concentrado de Hematíes elevan igualmente los niveles de Hb en un punto y de Hto en 3 él 4 puntos porcentuales y ambas tienen la misma capacidad de transporte de oxígeno. *(MOLLISON, R.L. págs.11-16)*

2.7 ENFERMEDAD HEMOLÍTICA DEL RECIÉN NACIDO

Puede ocurrir en el curso de un embarazo, parto o aborto, que se produzca una inmunización de la madre frente a los hematíes del feto. En este caso, si los Ac producidos son del tipo IgG (capaces de atravesar la barrera placentaria), puede

dar lugar a una hemólisis en el feto con mayor o menor gravedad clínica según la intensidad de la inmunización.

2.7.1 REACCIÓN TRANSFUSIONAL HEMOLÍTICA INMUNE INMEDIATA

La reacción hemolítica inmediata inmunológica representa la principal causa de muerte por transfusión. La reacción antígeno-anticuerpo con la subsiguiente hemólisis de los eritrocitos, desencadena un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica como consecuencia de la liberación de citocinas y activación de sistemas enzimáticos de amplificación. La coagulación intravascular diseminada y el fallo renal agudo son los eventos fisiopatológicos que dominan el cuadro. Se han desarrollado protocolos pre-transfusionales que ofrecen múltiples peldaños de seguridad, cuyo cumplimiento descarta la ocurrencia de reacciones fatales. Sin embargo, aún están presentes y se señalan como sus causas fundamentales los errores de identificación, la falta de conocimiento y la negligencia.

La reacción transfusional hemolítica aguda (RTHA) se conoce desde las primeras prácticas. En 1667, Jean Baptiste Denis describió los signos clásicos de esta en un paciente que recibió una transfusión de sangre de cordero. Hoy el conocimiento de sus causas, ha llevado al desarrollo de protocolos pretransfusionales estrictos que han disminuido considerablemente su presentación sin embargo, aún representa la causa principal de muerte asociada con la transfusión.

La existencia de anticuerpos (Ac) en el plasma del receptor contra antígenos (Ag) presentes en los eritrocitos transfundidos, desencadena la reacción, que con la formación del complejo Ag-Ac, dispara la respuesta fisiopatológica que involucra a múltiples sistemas enzimáticos, los cuales determinarán la extensión y severidad de los daños orgánicos.

La mayoría de las reacciones hemolíticas fatales y de las reacciones peligrosas que causan morbilidad importante, resultan de la transfusión de eritrocitos incompatibles para el sistema ABO. Otros Ac como los dirigidos contra los

sistemas Rh, Kell, Duffy o Kidd son capaces de causar la RTHA, pero rara vez sus resultados son catastróficos. (ROBLEDO, G. B págs.31-34)

2.7.2 REACCIÓN HEMOLÍTICA TARDÍA A LA TRANSFUSIÓN

Se presenta después de tres días a diez días después de esta última y puede no detectarse clínicamente. Esta reacción se produce por una respuesta inmunitaria anamnésica a los eritrocitos transfundidos a una persona sensibilizada previamente con anticuerpos no detectable en las pruebas anteriores a la transfusión. Los síntomas de presentación son fiebre, como anemia e ictericia. Los eritrocitos del paciente transfundido están recubiertos con anticuerpos demostrados por una TAD positiva.

2.8 MEDIOS QUE FACILITAN LA REACCIÓN ANTÍGENO ANTICUERPO.

Los antígenos suelen ser moléculas grandes que se hallan formando parte de las estructuras superficiales de los microorganismos (cápsula o pared bacteriana, envoltura o cápsida de los virus o de las toxinas que éstos segregan en el medio interno. Para cada antígeno que puede entrar en el organismo existen linfocitos B capaces de reconocerlo y de sintetizar proteínas que se unen específicamente al antígeno con el fin de desactivarlo. Estas proteínas se denominan anticuerpos.

Al unirse el antígeno con las moléculas del anticuerpo específico se desencadena una reacción antígeno-anticuerpo.

Las reacciones de aglutinación se afectan por las concentraciones de antígeno y anticuerpo y por condiciones físicas de las técnicas tales como pH, temperatura, fuerza iónica y tiempo de incubación. (http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/08_Tema_10_Reacciones_ant%C3%ADgeno_anticuerpo)

pH: 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 7,0.541

Temperatura: La mayoría de los anticuerpos de grupos sanguíneos reaccionan en un rango restringido de temperatura. Los anticuerpos de la clase IgM son más reactivos a bajas temperaturas (4- 27 °C), mientras que los de la clase IgG lo son a 37 °C. Por este motivo, las técnicas de detección de anticuerpos abarcan gamas de temperaturas de 22-37 °C ó 30-37 °C.

Fuerza Iónica: En una solución salina normal los iones Na⁺ y Cl⁻ se agrupan alrededor de las moléculas de antígeno y anticuerpo, neutralizan parcialmente sus cargas opuestas. Este recubrimiento dificulta la unión del anticuerpo con el antígeno y se reduce al disminuir la fuerza iónica del medio donde tiene lugar la Reacción, por lo general cuando la concentración salina del medio de reacción disminuye, la velocidad de captación del anticuerpo aumenta.

Tiempo de Incubación: Los anticuerpos de los diversos grupos sanguíneos tienen diferentes tiempos para alcanzar el equilibrio, en esto interviene de manera significativa la clase de inmunoglobulina y la forma en que se une con antígeno específico. Estudios con eritrocitos suspendidos en suero o solución salina han demostrado que del 100 % de anticuerpos RhD que se fijan, aproximadamente el 25 % lo hace en los primeros 15 minutos y el 75 % restante lo hace durante la una hora(<http://www.saludalia.com/Saludalia/servlets/contenido/jsp/parser.jsp>)

2.8.1 CONCENTRACIÓN DE ANTÍGENO Y ANTICUERPO

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.

Característica del Anticuerpo: Dos de las características de los anticuerpos que deben considerarse son el tamaño y el número de sitios de combinación con el antígeno, ya que entre los anticuerpos de las clases IgG e IgM existen considerables diferencias físicas. Los anticuerpos IgM pueden establecer puentes entre los eritrocitos y aglutinarios aún suspendidos en solución salina, mientras que los anticuerpos IgG no. Esto es posible porque las moléculas de IgM son circulares y poseen 10 sitios de combinación con el antígeno. Las moléculas de

IgG, a diferencia de las IgM, poseen sólo 2 sitios de combinación con el antígeno por lo tanto, para aglutinar 2 células sólo dispone de un sitio de combinación para cada una, estos a su vez se encuentran más cercanos uno del otro que los sitios de la IgM. (GARCÍA. Fernando, págs. 200-267).

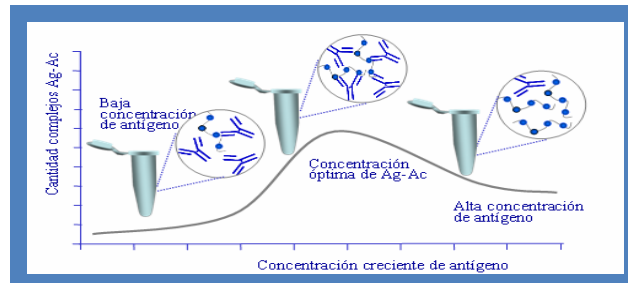


Figura N° 14. Cantidad de complemento

Fuente: <http://www.ub.es/biocel/wbc/tecnicas/anticuerpos.htm#arriba>

2.9. TÉCNICAS QUE IDENTIFICAN LA REACCIÓN ANTÍGENO ANTICUERPO.

2.9.1 LAVADO Y SUSPENSIÓN DE HEMATÍES

Figura N° 15 .Lavado y suspensión de hematíes



Fuente: *Laboratorio de Terapia transfusional- HPGDR*
Autores: *Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian*

1. Obtención de la muestra de sangre.
2. Centrifugar la muestra para separar el suero o plasma de los glóbulos rojos.
3. Pasar el suero o plasma a otro tubo limpio y rotulado.
4. Con una pipeta de Pasteur, colocar 0,5 ml de glóbulos rojos empaquetados en cada tubo.
5. Complementar con solución salina hasta antes de 1cm del borde superior.
6. Centrifugar por un minuto a 300 rpm para sedimentar las células.

7. Decantar la solución salina sobrenadante.
8. Agitar los tubos para re suspender los glóbulos rojos.
9. Repetir los lavados por tres veces.
10. En el último lavado la solución salina debe ser clara sin signos de hemólisis.
11. Preparar una suspensión al 5% (1 en 20): agregar 1 volumen de células sedimentadas (50ul) en 19 volúmenes de solución salina (1950ul), volumen final 2000ul.

2.9.2 TÉCNICA PARA VALORACIÓN DE ANTÍGENOS MAYORES Y MENORES DEL SISTEMA RH

1. Rotular tubos con la letra D,C,E,c,e, es preciso a cada letra acompañarle del código numérico que se ha designado.
2. Colocar una gota de antisuero Anti-D, una gota de Anti-C, Anti-E, Anti-c, Anti-e, en cada tubo limpio y rotulado respectivamente.
3. Colocar a cada tubo 50ul de las células lavadas y suspendidas.
4. Mezclar suavemente el contenido de los tubos y centrifugar 15 segundos a 3000 r.p.m.
5. Examinar los tubos en busca de hemólisis.
6. Resuspender suavemente el botón celular y examinar buscando aglutinación.
7. Anotar el resultado de la prueba. (JARAMILLO, 2010 págs. 2-3)

Figura N° 16.Reactivos de Fenotipos



*Fuente: Laboratorio de Terapia transfusional- HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian*

2.9.3 PRUEBAS DE COOMBS.

Este análisis puede detectar la presencia de anticuerpos en suero que reaccionan con antígenos en la superficie de los glóbulos rojos. Se detectan Ac Antic-D u otros Acs que atacan la membrana del GR, mediante el agregado del suero de Coombs (antiglobulina).

Se puede emplear Suero monoclonal-poli específico (Antic-IgG-c3d) o Antic IgG monoclonal Monoespecifico y Antic-c3d Monoclonal Mono específico. La prueba de Coombs directa detecta anticuerpos ya unidos a la superficie de los glóbulos rojos, y la prueba de Coombs indirecta detecta anticuerpos libres que pueden reaccionar in vitro con glóbulos rojos que tienen antígenos específicos.

2.9.4 DEFINICIÓN.

Se denomina también prueba de la anti globulina directa. Detecta la sensibilización del hematíe por IgG o complemento. Se llama directa porque los hematíes del paciente han sido sensibilizados en su propio organismo. Es un estado de reactividad alterada en el cual el organismo reacciona con una respuesta inmune exagerada, inapropiada y dañina contra un antígeno normalmente inocuo. Este tipo de reacción requiere un estado previo de sensibilización al antígeno.

2.9.5 CLASIFICACIÓN.

Hay dos formas de realizar la prueba de Coombs:

2.9.5.1 Directa e Indirecta.

La prueba de Coombs directa

Se utiliza para detectar anticuerpos que ya se han fijado a la superficie de los glóbulos rojos. Estos anticuerpos algunas veces destruyen los glóbulos rojos y provocan anemia

La prueba de Coombs indirecta.

La cual busca anticuerpos que fluyen libremente contra determinados glóbulos rojos. Casi siempre se hace para determinar si usted puede tener una reacción a una transfusión de sangre. Los anticuerpos o antígenos que se buscan, están en el suero del paciente.

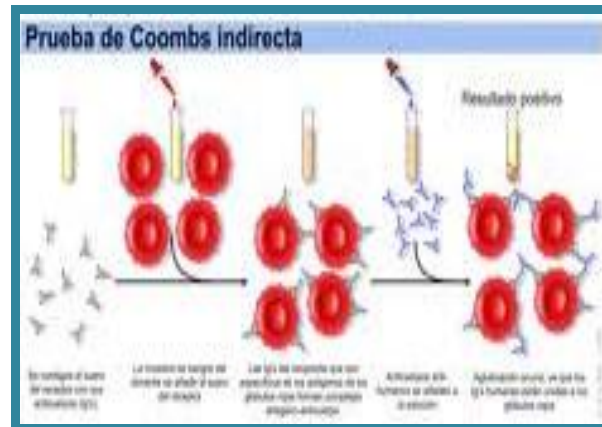


Figura N° 17. Prueba de Coombs indirecta

Fuente: <http://www.elergonomista.com/biologiasselectividad/sb08.html>

Utilidad

La prueba de Screening de suero de donantes y receptores para Acs.

Pruebas de compatibilidad sanguínea transfusionales.

Fenotipo de GR. Identificación y titulación de Ac encontrados en suero.

2.9.6 COOMBS DIRECTO (TÉCNICA E INTERPRETACIÓN).

Muestra

- Células lavadas y suspendidas 1 en 20 (1 volumen de células sedimentadas (50ul) en 19 volúmenes de solución salina (1950ul) volumen final 2000ul)

Materiales

- Tubos de vidrio
- Glóbulos rojos en estudio
- Reactivo de antiglobulina humana.

Método.

1. Lavar por tres veces un volumen de suspensión de glóbulos rojos
2. Al identificar o rotular los tubos (este examen se lo hará por duplicado)
3. A cada tubo añadir 50ul de células lavadas y suspendidas
4. Centrifugar 20 segundos
5. Agitar suavemente y leer sobre una lámpara de luz blanca.
6. Registrar los resultados
7. Si la prueba es negativa añadir una gota de células control recubierta de inmunoglobulina G.
8. Centrifugar 20 segundos y leer. Utilizar una fuente de luz blanca

Interpretación de los resultados

Si en la prueba de Coombs directo observa aglutinación esto indica presencia de anticuerpos y /o complemento unidos a los hematíes in vivo, repita nuevamente el procedimiento pero utilizando los reactivos Mono específicos anti-IgG y anti-C3d.

Patrones de reacción

Reactivos monoespecíficos.

Tabla N° 1. Patrones de reacción.

	1	2	3	4
anti IgG	+	+	-	-
anti C3	-	+	+	-

*Fuente: Técnica Inmunoematología HPGDR
Elaborado por: Tatiana Quimbiulco y Lilian Ramírez*

2.9.7 COOMBS INDIRECTO(TÉCNICA DE PANTALLAS I-II y I-II-III)

Técnica de pantallas I – II

Principio. Técnica utilizada para detectar Ac irregulares que ocasionaran, reacciones transfusionales o sensibilización de los hematíes, es de gran utilidad para detectar Ac que ocasionan hemólisis extravascular o intravascular, se requiere para este ensayo suero o plasma del paciente o receptor de sangre, las células I y II conocidas como pantallas están destinadas a utilizarse en donantes de sangre. Esto garantizara con un resultado negativo, que el componente plasmático del donante carece de Ac, cuyo plasma o componentes plasmáticos podrán utilizarse en la terapia Transfusional.

Requerimiento:

- ? Pantallas I y II
- ? Suero o plasma del receptor o paciente
- ? Liss
- ? Suero de coombs C3d +IgG
- ? Células control coombs
- ? Tubos
- ? Lámpara de blanco
- ? Centrifuga

Fase salina:

1. Identifique los tubos de ensayo correspondientes a los distintos hematíes reactivos de Pantalla 1 Y 2.
2. Añada a cada tubo 1 gota (50 ul) de los hematíes reactivo correspondientes,
3. Añada a cada tubo 2 gotas (100 ul) del suero o plasma que debe analizarse

4. Mezcle cuidadosamente e incube durante 5 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C)
5. Centrifugue 20 segundos a 3500rpm.
6. Resuspenda cuidadosamente los eritrocitos y realice una observación macroscópica sobre una lámpara de luz blanca comprobando si exista aglutinación o hemólisis.

Fase Liss

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

FASE (Coombs)

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

2.9.7.1 TÉCNICA DE PANTALLAS I – II Y III

Requerimiento.

- Pantallas I–II Y III
- Suero o plasma del receptor o paciente.
- Tubos
- Lámpara de blanco
- Centrifuga

Método.

1. Rotular tubos de ensayo con sus determinaciones I, II, III
2. Utilizar suero o plasma de estudio 100ul en los tubos rotulados
3. Añadir 50 ul del reactivo pantalla I, II, III, en cada tubo.
4. Centrifugar 0.15 segundos a 3000 rpm
5. Observar en luz blanca.

Reportar.

Los resultados de pantallas I – II son positivos, mientras que los resultados de pantallas III, es negativo pero su interpretación mejora para el anticuerpo Anti-D, debido a la reacción con la pantalla tres por su composición antigénica c,c,d,e,e, que descarta al anticuerpo anti-D, por esta razón es una prueba confirmatoria.

2.9.7.2 INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Pantallas I – II

Interpretación de resultados en ensayos negativos

Los resultados negativos darán positividad con células control Coombs si se mantuviera la negatividad el ensayo no es válido.

Interpretación de resultados en ensayos positivos

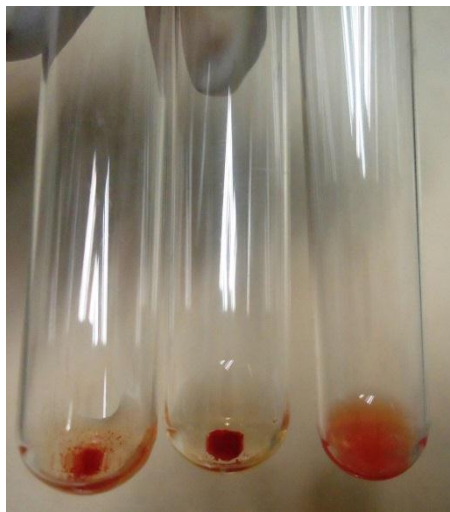
Los resultados de pantallas I y II positivos deberán ser analizados con multipanel de 11 células, la técnica es similar, lo que difiere es que se trabaja con 11 tubos (9 tubos más)

Pantalla I – II y III.

Interpretación

Los resultados de pantallas I – II son positivos, mientras que los resultados de pantallas III, es negativo pero su interpretación mejora para el anticuerpo Anti-D, debido a la reacción con la pantalla tres por su composición antigénica c,c,d,e,e, que descarta al anticuerpo anti-D, por esta razón es una prueba confirmatoria.

Figura N° 18. Interpretación de Resultados



*Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramiez Lilian
Fuente: [Http://Www.Elergonomista.Com/Biologiasselectividad/Sb08.html](http://Www.Elergonomista.Com/Biologiasselectividad/Sb08.html)*

2.9.7.3 PRUEBA DE PANTALLA Y MULTIPANEL.

El panel es realizado para identificar anticuerpos irregulares en el suero de pacientes que tienen un tamizaje positivo, para identificar anticuerpos desconocidos. Es también hecho sobre suspensión de células rojas que tienen un test positivo anti globulina directa. La identificación de los anticuerpos es

necesaria antes de cualquier transfusión, si el tamizaje es positivo. Esta prueba es utilizada en estudios de pacientes obstétricas con anticuerpos positivos, para el diagnóstico antenatal, de una posible enfermedad hemolítica del recién nacido y en estudios de anemia hemolítica cuando el coombs directo o indirecto son positivos.

Fase salina

1. Identifique los tubos de ensayo correspondientes a los distintos hematíes reactivos de Pantalla o Multipanel.
2. Añada a cada tubo 1 gota (50 ul) de los hematíes reactivo correspondientes,
3. Añada a cada tubo 2 gotas (100 ul) del suero o plasma que debe analizarse
4. Mezcle cuidadosamente e incube durante 5 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C)
5. Centrifugue 20 segundos a 3500rpm.
6. Resuspenda cuidadosamente los eritrocitos y realice una observación macroscópica sobre una fuente de luz indirecta comprobando si exista aglutinación o hemólisis.

Fase Liss:

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

Fase (Coombs):

11. Lave 3 veces al contenido de los tubos con solución salina isotónica y elimine.
12. Añada a cada tubo 2 gotas (100 ul) de “Coombs-serum”.
13. Mezclar suavemente y centrifugo durante 20 segundos a 3500.
14. Resuspenda cuidadosamente los eritrocitos y realice una observación macroscópica sobre una fuente da luz directa comprobando si existe aglutinación.
15. Confirme los resultados negativos con “DiaMad Coombs-Costrollg°.

(JARAMILLO, F. 2010 págs.3-2)

Figura N° 19.Reactivos de Multipanel



*Fuente: Laboratorio de Terapia transfusional- HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian*

2.10. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS.

Aglutinación de los antígenos.- Las reacciones de aglutinación y de precipitación son la base de la mayor parte de las técnicas inmunológicas.

Aglutinación directa.- Es un antígeno celular o de partículas insolubles es aglutinado directamente por el anticuerpo.

Aglutinación indirecta.- Se refiere a la aglutinación de las células recubiertas de antígeno o a las partículas inertes que son portadoras pasivas de antígenos solubles.

Aglutinación.- Proceso por el cual los glóbulos rojos se unen y ligan entre sí.

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.

Antígeno.-Cualquier sustancia reconocida por el organismo como extraña, que estimula una respuesta inmune.

Células B.- Son los leucocitos de los cuales depende la inmunidad mediada por anticuerpos con actividad específica de fijación de antígenos.

Complejo Ag-Ac.- (Ag-Ac) es una de las piedras angulares en la respuesta inmunitaria del cuerpo humano.

Epítomos .-Zona del Ag que es reconocido por el sistema inmunitario.

Exógenos.-Son los que vienen de afuera; pueden haber de varios tipos como polen, polvo, heces de ratas, proteínas de la leche, bacterias, etc. Como producto de éstos podemos padecer de una enfermedad clínica con sintomatologías, como diarrea, asma, tifoidea, etc.

Fagocitos.-Los fagocitos son células presentes en la sangre y otros tejidos animales capaces de captar microorganismos y restos celulares (en general, toda clase de partículas inútiles o nocivas para el organismo) e introducirlos en su interior con el fin de eliminarlos, en un proceso conocido como fagocitosis.

Fijación del complemento.- Fijación del complemento es una técnica de laboratorio específica que busca ver si el cuerpo ha producido anticuerpos para

una sustancia extraña específica (antígeno). Si hay presencia de anticuerpos, éstos se pegan o se fijan al antígeno, razón por la cual el examen se denomina fijación.

Funciones efectoras.-El Efector es un tipo de célula cuya principal función es la ejecución de respuestas ante los estímulos que reciben. Entonces, como consecuencia que las células de un ser vivo deben responder todas de manera coordinada, existen estas células especializadas llamadas efectores que se ocupan de proporcionar respuestas del movimiento y de la secreción de sustancias.

Glicosilación: La glicosilación o glucosilación proteica es el proceso de adición de carbohidratos a una proteína. El destino de las proteínas a las que se le ha añadido una cadena de glúcidos (glicoproteínas) es ser secretadas o formar parte de la superficie celular, aunque algunas proteínas nucleares y citosólicas también están glicosiladas.

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 eritrocitarios correspondiente, en presencia de complemento.

Hemolizantes: Dícese de la sustancia capaz de provocar o estimular la hemólisis, como ciertos venenos de hongos y serpientes o algunos fármacos.

Hidrofóbicas: El término hidrofobia proviene del griego donde se combinan las palabras hydrós (agua), y fobos (horror). Por lo tanto, algo hidrófobo es aquello que tiene horror al agua.

Histocompatibilidad.- Semejanza entre dos o más tejidos a nivel de sus características genéticas e inmunológicas como el sistema ABO, HLA, etc. La histocompatibilidad es imprescindible para el éxito de un trasplante de órganos o sangre entre un donador y un receptor en el caso de que no se dé se produce un rechazo.

Inhibición de la hemaglutinación.-La inhibición de la aglutinación de los eritrocitos recubiertos con antígeno por el antígeno homólogo es un método sensible y específico para la identificación de pequeñas cantidades de antígeno soluble en la sangre o en otros líquidos de los tejidos

Inmunógeno.- Sustancia capaz de inducir una respuesta inmunitaria específica y de reaccionar con las moléculas generadas durante dicha respuesta.

Inmunoglobulinas.-Los anticuerpos (también conocidos como inmunoglobulinas) que son glucoproteínas del tipo gamma globulina.

Inmunopotencia.- Es la capacidad de una zona de un Ag para servir como determinante antigénico o epitope.

Las glicoproteínas.- También mal llamadas glucoproteínas, son moléculas compuestas por una proteína unida a uno o varios glúcidos simples o compuestos.

Lisis celular.-Es el rompimiento de la membrana celular. Todas las células tienen una membrana hecha de fosfolípidos que separan el contenido celular del ambiente extracelular.

Opsonización.-Fenómeno por el que ciertos anticuerpos combinados con el antígeno, permiten una mejor fagocitosis de éste.

Polimeración: Proceso químico por el cual mediante el calor la luz o un catalizador se unen varias moléculas de un compuesto para formar una cadena de múltiples eslabones de estas y obtener una macromolécula.

Prueba de Coombs directo.-Esta prueba se usa para determinar si hay complemento o anticuerpos ya fijados a glóbulos rojos tomados directamente del paciente.

Prueba de Coombs indirecta.- Esta detecta anticuerpos libres que pueden reaccionar in vitro con glóbulos rojos que tienen antígenos específicos.

Pruebas cruzadas.-Es un examen de laboratorio en el cual comparas la sangre del receptor con la del donante para descartar algún riesgo de incompatibilidad.

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).

Regiones hipervariables.- Región que presenta seis sitios de alta variabilidad, los cuales se encuentran en la región variable de una inmunoglobulina, y que es responsable de la conformación y especificidad del sitio de unión para el antígeno en un anticuerpo.

Sistema del complemento.- Es uno de los componentes fundamentales de la conocida respuesta inmunitaria defensiva ante un agente hostil.

Sistema inmunitario.-Es la defensa natural del cuerpo contra las infecciones como las bacterias y los virus. A través de una reacción bien organizada, su cuerpo ataca y destruye los organismos infecciosos que lo invaden.

Sistema Rh: Sistema de clasificación de grupos sanguíneos que se basa en la existencia en la membrana de los glóbulos rojos de un antígeno denominado D. Las personas cuya sangre lo poseen se clasifican en el grupo Rh+. Las personas que carecen de este antígeno se clasifican en el grupo Rh-.

Suero de coombs poliespecífico.- Es reactivo para pruebas de inmunohematología en suero y tarjeta de gel.

Técnica de pantalla.- Equipo totalmente automatizado para realizar técnicas de inmunohematología.

Xenógeno.- Dentro de este grupo encontramos a los xenoantígenos o heteroantígenos, que son aquellos que se encuentran en diferentes especies animales, incluyendo al hombre.

SIGLAS

ABO: Grupo Sanguíneo

Ac: Anticuerpos

Ag: Antígeno

BCR: Receptor de Linfocitos B

CD4: Cúmulo de Diferenciación 4

CDR: Regiones Determinantes de la Complementariedad

Da: Dalton

HLA: Antígenos Leucocitarios Humanos

HLDA: Diferenciación de los Leucocitos Humanos

IgA: Inmunoglobulina A

IgE: Inmunoglobulina E

IgG: Inmunoglobulina G

IgM: Inmunoglobulina M

LB: Linfocito B

LT: Linfocito T

NK: Natural Killer

MH: Complejo Mayor de Histocompatibilidad

PFC: Plasma Fresco Congelado

TCR: Receptor de la célula T

TH: Los Linfocitos T helper (colaboradores)

VL: Regiones Variables

VH: Regiones Hipervariables.

2.11 HIPÓTESIS Y VARIABLES

2.11.1 HIPÓTESIS.

Se puede mejorar la identificación de los anticuerpos inespecíficos, al correlacionar los resultados de la prueba antiglobulínica indirecta cuando se usa pantallas I y II con pantallas I, II y III.

2.11.2 VARIABLES

2.11.2.1 VARIABLE INDEPENDIENTE.

Pantallas I y II con pantallas I–II y III.

2.11.2.2 VARIABLE DEPENDIENTE.

Identificar anticuerpos inespecífico

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Tabla Nº2. Operacionalización de variables

VARIABLE	CONCEPTO	CATEGORÍA	INDICADORES	INSTRUMENTO
<p>Independiente:</p> <p>Pantallas I y II con pantallas I –II y III.</p>	<p>Prueba que valora la presencia de anticuerpos inespecíficos o irregulares, mediante la utilización de plasma</p>	<p>Pruebas Inmunohematológicas.</p>	<p>Reacción de hemaglutinación positiva al identificar la presencia del anticuerpo irregular.</p>	<p>Guía de observación.</p> <p>Reactivos de pantallas I y II con pantallas I -II y III.</p>
<p>Dependiente:</p> <p>Identificar anticuerpos inespecíficos</p>	<p>Inmunoglobulinas formadas por la sensibilización o estímulo antigénico dirigido a los hematíes.</p>	<p>Anticuerpos irregulares</p>	<p>Inmunoglobulinas IgG de reacción térmica.</p>	<p>Guía de observación.</p> <p>Panel para la lectura del anticuerpo irregular presente.</p>

Fuente: Datos obtenidos del área de medicina transfusional del HPGDR

Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian

2.12

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Tabla N° 2. Operacionalización de variables

VARIABLE	CONCEPTO	CATEGORÍA	INDICADORES	RUMENTO
Independiente: Pantallas I y II con pantallas I – II y III.	Prueba que valora la presencia de anticuerpos inespecíficos o irregulares, mediante la utilización de plasma	Pruebas Inmunohematológicas.	Reacción de hemaglutinación positiva al identificar la presencia del anticuerpo irregular.	Guía de observación. Reactivos de pantallas I y II con pantallas I -II y III.
Dependiente: Identificar anticuerpos inespecíficos	Inmunoglobulinas formadas por la sensibilización o estímulo antigénico dirigido a los hematíes.	Anticuerpos irregulares	Inmunoglobulinas IgG de reacción térmica.	Guía de observación. Panel para la lectura del anticuerpo irregular presente.

Fuente: Datos obtenidos del área de medicina transfusional -H.P.G.D.R.

Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1 MÉTODO CIENTÍFICO.-

En nuestra investigación se utilizó el método inductivo deductivo que en su particularidad nos ayudó a partir de los objetivos, planteamiento de problema, metodología hemos obtenidos nuestros datos estadísticos, comprobación de la variable, hipótesis, estadísticas, conclusiones y finalmente recomendaciones de la investigación.

3.1.1 MÉTODO DEDUCTIVO- INDUCTIVO:

Utilizamos este método ya que nos ayudó al estudio de cada uno de los casos de los pacientes para obtener resultados generales que nos llevó a sacar conclusiones particulares de nuestro tema de investigación. Ya que estudiará el problema de manera particular para llegar en lo posterior a las conclusiones generales, utiliza un método explicativo, analítico y describe causas, consecuencias del proyecto a investigar, el método analítico ayuda a revisar y analizar ordenadamente las particularidades del problema a estudiar.

3.1.2 LA APLICACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO:

La utilización segura, eficiente y clínicamente eficaz de la sangre de donantes y receptores, establece la eficacia del tratamiento de transfusión por consecuencias amerita estudios de control pos transfusional así evitaremos incompatibilidades feto materno y pre transfusionales este control ayudará a prevenir reacciones consideradas como inmediatas o tardías

3.1.3 LA UTILIZACIÓN DEL MÉTODO SINTÉTICO:

En este método adjuntamos todas las estadísticas, datos, historia clínica de los pacientes, enfermedades anteriores, para determinar el análisis correcto, diagnóstico y referencia, mediante las pruebas de correlación de resultados

evitaremos posibles falsos resultados positivos y negativos, teniendo en cuenta las particularidades del uso de pantallas para la identificación de anticuerpos inespecíficos.

3.1.4 APLICACIÓN DEL MÉTODO EXPLICATIVO:

En este método buscamos la correlación de los resultados de la prueba antiglobulínica indirecta mediante el uso de pantallas I y II con pantallas I – II y III para identificar anticuerpos inespecíficos en muestras de sangre y evaluar los casos que ameritan la realización de las pruebas antiglobulínicas. Valorar el principio técnico de las células pantallas I y II con las células pantallas I– II y III.

3.1.5 TIPO DE INVESTIGACIÓN:

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

3.1.6 DESCRIPTIVA:

También conocida como la investigación estadística, describen los datos de los pacientes que acuden al HPGDR en el periodo junio – noviembre, valorando la presencia o ausencia de anticuerpos inespecífico presentes en las pruebas antiglobulínicas del sistema Rh así podremos evitar reacciones transfusionales en el área de inmunohematología.

3.1.7 EXPLICATIVA:

Los resultados de la prueba antiglobulínica indirecta cuando se usa pantallas I y II necesariamente se comprueba con la técnica del multipanel de células, con pantallas I- II y III esta es una prueba confirmatoria que nos evita mayores gastos económicos y obtendremos resultados confiables.

3.1.8 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

Esta investigación fue de campo no experimental, porque vamos a recolectar muestras de los pacientes y aportar con un diagnóstico realizando la correlación de los resultados de pantallas I- II y Pantallas I - II y III .

3.1.9 DE CAMPO:

Nuestra investigación se realizó en el laboratorio de inmunohematología del servicio de medicina transfusional del HPGDR ya que la concurrencia de mujeres al centro obstétrico y cirugía es frecuente, brinda el servicio a la sociedad y comunidad de la provincia de Chimborazo.

3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

3.2.1 POBLACIÓN

La presente investigación está constituida por 67 ensayos con el número de 823 determinaciones que se realizó durante el tiempo planteado en la investigación.

3.2.2 MUESTRA

Se obtiene de los usuarios que acuden al servicio de medicina transfusional atendidos en el Hospital Provincial General Docente de Riobamba un total de 67 ensayos de estudio.

3.3 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.

3.4 TÉCNICAS

3.4.1 OBSERVACIÓN:

En nuestro ensayo observamos Anticuerpos mayores D,C,E y menores c,d,e del sistema Rh y la diferencia de pantallas I-II con I –II y III

3.4.2 ANÁLISIS DOCUMENTAL.

Nos regimos a las técnicas inmuematológicas del área de transfusión sanguínea cumpliendo con sus parámetros.

3.4.3 RECOPIACIÓN BIBLIOGRÁFICA

Utilizamos libros, guías, manuales y pruebas del área de inmunohematología para sustentar nuestro trabajo.

3.5 INSTRUMENTOS:

Tabla N° 3. Instrumentos, materiales y reactivos

EQUIPOS	MATERIAL		REACTIVOS	
Centrifuga	Tubos de ensayo	Pipetas desechables	Reactivo de coombs	Fenotipos mayores y menores
Sistema de Incubación	Dispensador	Dermo	Pantallas I y II	Multipanel
Fuente de luz	Gradillas	Guantes y mascarilla	Pantallas I-II y III	Controles

*Fuente: Datos obtenidos del área de medicina transfusional - HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian*

3.6 GUÍA DE OBSERVACIÓN:

Datos de los resultados obtenidos durante el desarrollo de nuestra investigación.

3.7 COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS

Los resultados obtenidos con el uso de células reactivas de pantallas I y II no fueron específicos por su limitación a la composición antigénica al comprobar con células reactivas de pantallas I - II y III se mejora la interpretación por la composición de sus antígenos ; estos resultados fueron validados con el multipanel y se concluye los resultados para anticuerpos irregulares .

La interpretación de los resultados Rh positivos y negativos, no solo se basa en la valoración de la presencia o ausencia del antígeno D, esto implica también valorar la combinación de los otros antígenos del sistema Rh, sobre todo cuando se trata de transfusiones de sangre o de evaluar incompatibilidades feto materno a causa del sistema Rh.

POBLACIÓN	FENOTIPOS	PAD	PANTALLAS 1Y 2	PANTALLAS 1, 2 Y 3	MULTIPANEL	DETERMINACIONES
67	335	125	54	81	297	892

3.8 ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

CANTIDAD DE ENSAYOS REALIZADOS EN EL PERIODO INVESTIGATIVO

Tabla N° 4. Cantidad de ensayos realizados en el periodo investigativo.

MES	ENSAYOS
JUNIO	13
JULIO	10
AGOSTO	9
SEPTIEMBRE	11
OCTUBRE	15
NOVIEMBRE	9
TOTAL	67

Fuente: Datos obtenidos del área de medicina transfusional - HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian

Figura N° 20. Combinaciones fenotípicas de los ensayos realizados



Fuente: Datos obtenidos del área de medicina transfusional - HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian

INTERPRETACIÓN.- En el periodo investigativo Junio a Noviembre del año 2013 se analizaron a 67 muestras de sangre con la fenotipificación Rh, el mes de mayor recolección de muestras fue en Octubre con 15 ensayos correspondiente al 22% de la población analizada y en Agosto - Noviembre se recolectan 9 muestras su relación porcentual es de 14% de la población analizada .

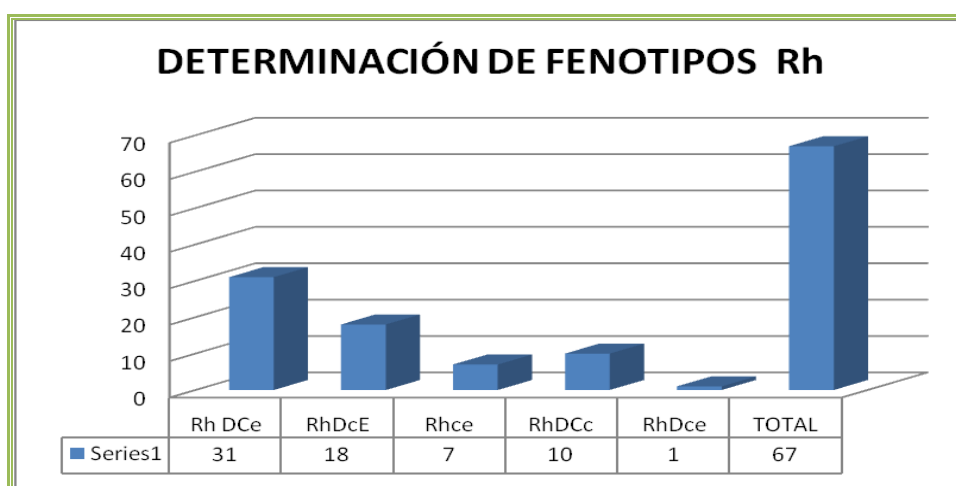
COMBINACIONES FENOTÍPICAS DE LOS ENSAYOS REALIZADOS.

Tabla N° 5. Determinación de fenotipos de los ensayos realizados

Rh DCe	31
RhDcE	18
Rhce	7
RhDCc	10
RhDce	1
TOTAL	67

*Fuente: Datos obtenidos del área de medicina transfusional - HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian*

Figura N° 21. Combinaciones fenotípicas de los ensayos realizados



*Fuente: Datos obtenidos del área de medicina transfusional - HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian.*

INTERPRETACIÓN.- Se analizan a 67 muestras de sangre procedentes del servicio de ginecología, medicina interna y cirugía, con antecedentes de transfusiones y multiparidad los ensayos practicados son tipificación de fenotipos Rh, de los cuales se concluyen que la expresión antigénica Rh positiva son 60 ensayos, combinados con antígenos mayores, menores y resultados con carencia del antígeno D a los que se les conoce como Rh negativos 7 ensayos, esto son procedentes del área de gineco obstetricia y medicina interna.

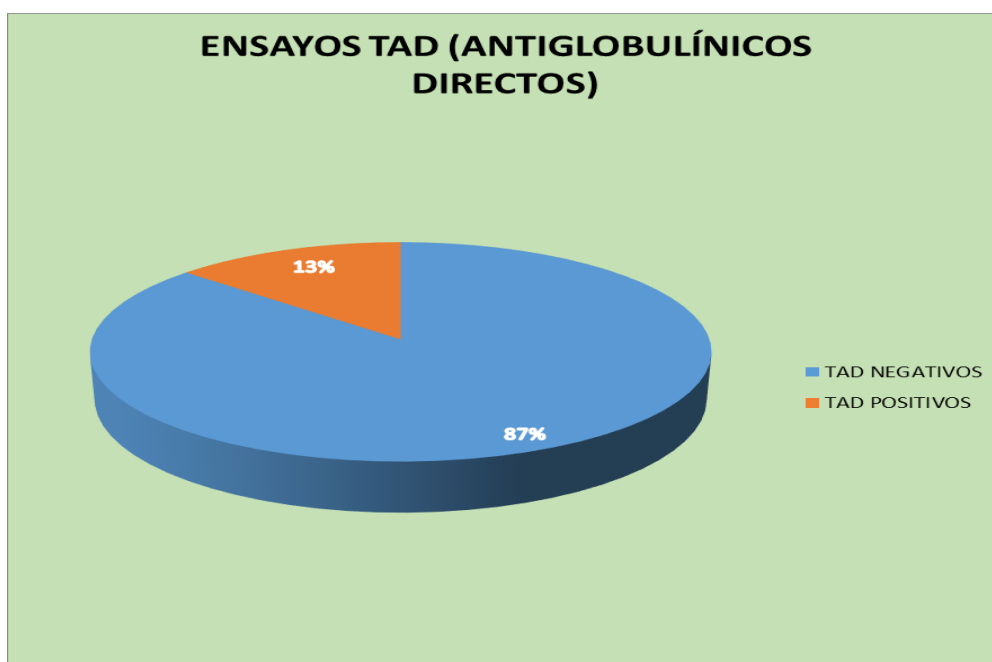
ENSAYOS (TAD) ANTIGLOBULÍNICOS DIRECTOS.

Tabla N° 6. Ensayos TAD antiglobulínicos directos

NÚMEROS	TAD NEGATIVOS	TAD POSITIVOS
67	58	9

*Fuente: Datos obtenidos del área de medicina transfusional - HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian*

Figura N° 22. Ensayos TAD antiglobulínicos directos



*Fuente: Datos obtenidos del área de medicina transfusional - HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian*

INTERPRETACIÓN.- Se procede al análisis del test antiglobulínico directo para validar la presencia o ausencia de anticuerpos inespecíficos producidos por estímulos antigénicos a causa de la politransfusión o multiparidad, los resultados son 58 determinaciones con resultados negativos y 9 determinaciones con resultados positivos, a estos ensayos se les procede al análisis con la prueba antiglobulínica indirecta.

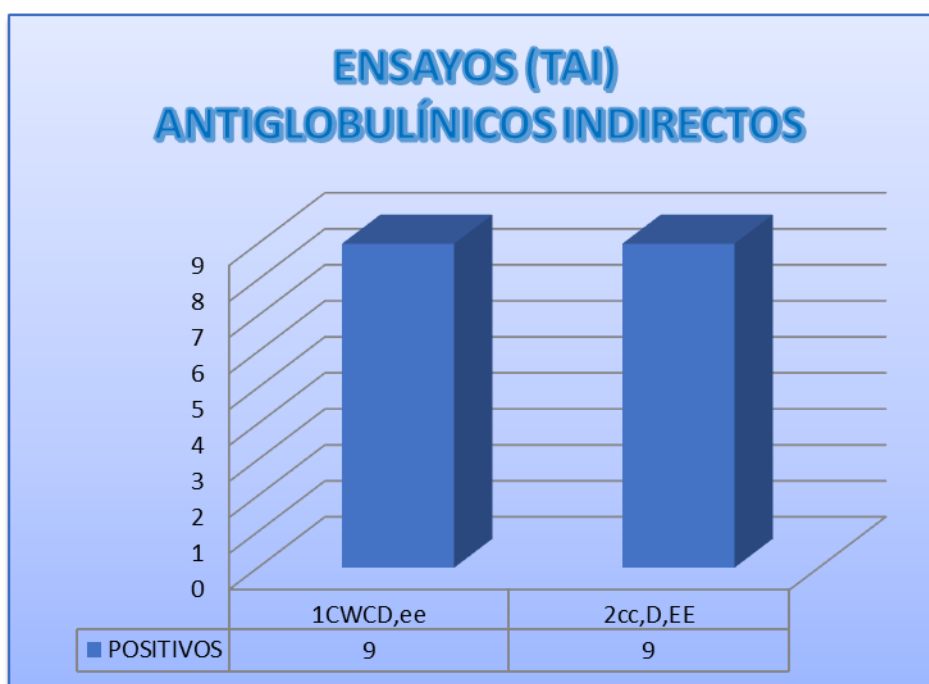
ENSAYOS (TAI) ANTIGLOBULÍNICOS INDIRECTOS

Tabla N° 7. Ensayos TAI antiglobulínicos indirectos

Fuente: Datos obtenidos del	PANTALLA		POSITIVOS
	1CWCD,ee		9
	2cc,D,EE		9

área de medicina transfusional - HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian

Figura N° 23. Ensayos TAI antiglobulínicos indirectos



Fuente: Datos obtenidos del área de medicina transfusional- HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian

INTERPRETACIÓN.- A los 9 ensayos con TAD positivos se procede a la realización del TAI, los 9 ensayos son positivos, su interpretación se complica debido a que menos células reactivas hay para la interpretación de los resultados mayor es la cantidad de anticuerpos presentes, esta complicación se la suma la composición de las células de pantallas por la cantidad de antígenos que la compone.

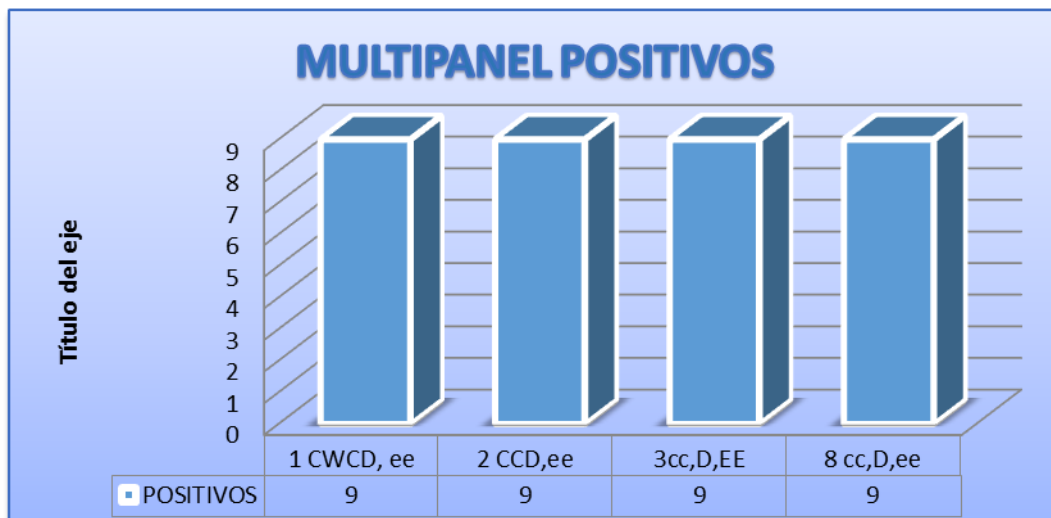
ANÁLISIS DE ENSAYOS MULTIPANEL

Tabla N° 8. Análisis de ensayos Multipanel

PANTALLAS	POSITIVOS
1 CWCD, ee	9
2 CCD,ee	9
3cc,D,EE	9
8 cc,D,ee	9

*Fuente: Datos obtenidos del área de medicina transfusional - HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian*

Figura N° 24. Ensayos de Multipanel Positivos



*Fuente: Datos obtenidos del área de medicina transfusional – HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian*

INTERPRETACIÓN.- A los ensayos positivos con pantallas I - II y III se le realizan multipanel de células con 11 células reactivas, los cuales confirman la positividad pero mejoran la interpretación del anticuerpo identificado que es el Anti-D, esto es interpretado gracias a la composición de las células reactivas I- II y III que en su composición contienen el antígeno D para reaccionar con el plasma que contienen el anticuerpo Anti-D.

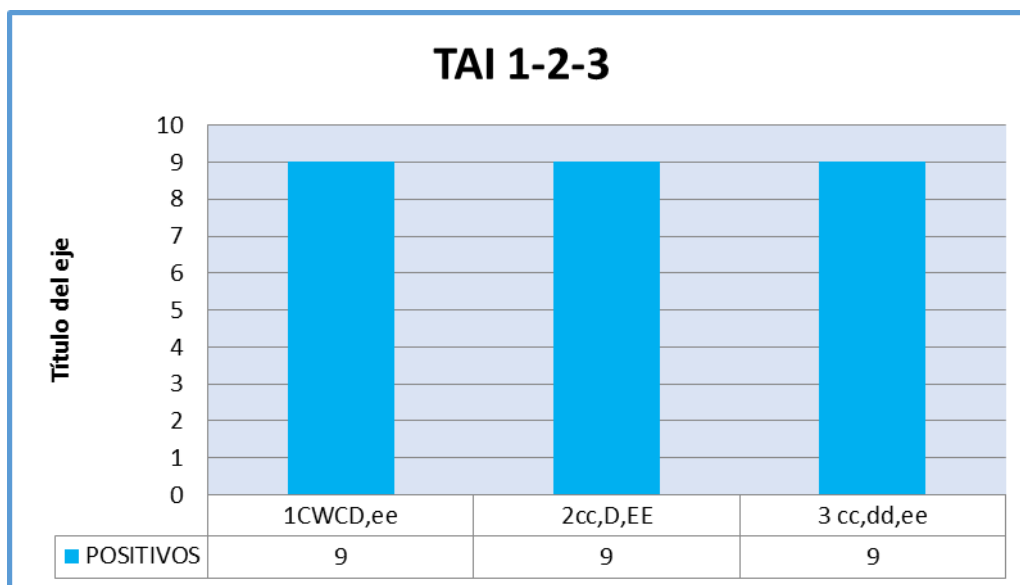
ANÁLISIS DEL ENSAYO DE LAS PANTALLAS I - II Y III.

Tabla N° 9 . Análisis de las pantallas I - II y III

PANTALLA	POSITIVOS
1CWCD,ee	9
2cc,D,EE	9
3 cc,dd,ee	9

*Fuente: Datos obtenidos del área de medicina transfusional - HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian*

Figura N° 25. Análisis pantallas I, II y III.



*Fuente: Datos obtenidos del área de medicina transfusional - HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian*

INTERPRETACIÓN.- A los ensayos con pantallas I y II se le realiza pantallas I - II y III , los resultados son positivos para las dos células, pero su interpretación mejora para el anticuerpo Anti-D, debido a la composición de las células I- II y III , permitiendo descartar la reacción con la pantalla tres por su composición antigénica ccdee, que descarta al anticuerpo anti-D

Tabla N° 10. Fase Salina

FASE SALINA			
MUESTRAS	PANTALLAS 1	PANTALLAS 2	PANTALLAS 3
1	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
2	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
3	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
4	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
5	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
6	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
7	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
8	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
9	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO

*Fuente: Datos obtenidos del área de medicina transfusional - HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian*

Tabla N° 11. Fase Liss

FASE LISS			
1	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
2	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
3	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
4	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
5	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
6	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
7	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
8	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
9	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO

*Fuente: Datos obtenidos del área de medicina transfusional - HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian*

Tabla N° 12. .Fase Coombs

FASE COOMBS			
MUESTRAS	PANTALLAS 1	PANTALLAS 2	PANTALLAS 3
1	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
2	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
3	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
4	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
5	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
6	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
7	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
8	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
9	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO

*Fuente: Datos obtenidos del área de medicina transfusional - HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian*

Tabla N° 13. Correlación de los resultados de pantallas

PANTALLA	POSITIVOS	PANTALLA	POSITIVOS
1CCD,ee	9	1CCD,ee	9
2cc,D,EE	9	2cc,D,EE	9
		3 cc,dd,ee	Negativo

*Fuente: Datos obtenidos del área de medicina transfusional - HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian*

Tabla N° 14. Resultados en las diferentes determinaciones

POBLACIÓN	FENOTIPOS	PAD	PANTALLAS 1Y 2	PANTALLAS 1, 2 Y 3	MULTIPANEL	DETERMINACIONES
67	335	125	54	81	297	892

*Fuente: Datos obtenidos del área de medicina transfusional - HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian*

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 CONCLUSIONES:

- Mediante la aplicación de la prueba transfusional sanguínea directa se identificó antígenos del sistema Rh, su interpretación se da por la presencia de la reacción de hemoaglutinación.
- La prueba antiglobulínica directa valora anticuerpos unidos a los hematíes del paciente que puede o no estar provocando una sensibilización o reacción Ag – Ac pero no detectó a los Ac irregulares libres esto se lo hace con la prueba antiglobulínica indirecta.
- Las pantallas I - II o I - II y III son células conocidas con antígenos para diversos sistemas de grupos sanguíneos, en este método no fue tan útil las pantallas I - II por cuanto su composición limita la interpretación específica de anticuerpos irregulares, las células I- II y III mejoran la reacción Ag –Ac y su interpretación.
- El multipanel de células tiene una composición de Ag múltiples por ello su nombre de multipanel los resultados obtenidos con pantallas I - II y III son las mismas que se interpretó con la técnica multipanel.

4.2 RECOMENDACIONES

- Para realizar pruebas de tipificación en tubo, se procede al lavado de hematíes con solución salina isotónica y sangre de hematíes para mejorar la interpretación de la reacción.
- La prueba de aglutinación directa se hace como control post transfusional o para descartar las incompatibilidades feto materno al llegar a ser útil este control pre transfusional evitar reacciones inmediatas.
- Células reactivas con un número menor a la composición antigénica limito la interpretación lo que conllevo a utilizar técnicas que tengan un mayor número de células, esto provocará una mayor inversión de tiempo y dinero.
- La identificación de Ac irregulares con células reactivas Prueba Antiglobulínica Indirecta se debe practicar con pantallas I- II y III ya que se demuestra la eficacia en sus resultados. Si se emplea pantallas I y II necesariamente se debe comprobar resultados con pantallas de mayor número de antígenos estos son más costosos.

BIBLIOGRAFÍA:

1. ANGOL Gilberto M. Mauricio Ángel R. Interpretación clínica del Laboratorio 7^a. Edición; pp 330
2. GARCÍA E, Benjamín, Rubio C. Faustina y Carrasco C, Manuel: Hematología 2, Hemostasia Banco de Sangre y Control de Calidad; Editorial Paraninfo; ed. Segunda; España; pp.431
3. GARCÍA Tamayo Fernando, Fundamentos de Inmunoematología, editorial México ISBN 968-36-51712; ed. Primera; México 1977; pp.267
4. GARCÍA E, Benjamín, Rubio C. Faustina y Carrasco C, Manuel: Hematología 2, Hemostasia Banco de Sangre y Control de Calidad; Editorial Paraninfo; ed. Tercera; Miami 1998; pp.230
5. GUILLERMO J. Ruiz Argüelles, Fundamentos de Hematología. Libro del medico; Editorial Panaamericana;ed. Cuarta;Mexico 2009;pp 60-62
6. JARAMILLO, F. (2010). La Práctica Transfusional y la Inmunoematología. Riobamba.
7. JARAMILLO, F. (2010). Sangre y Componentes Seguros. Guía para la realización de pruebas inmunoematológicas. Riobamba
8. MADIGAN M,T, Martingo, 08 Tema 10 Reacciones antígeno anticuerpo, editorial, Médica Panamericana; ed.Novena; Venezuela 2007; pp.3-4
9. MOLLISON R. L, Transfusión de Sangre en Medicina Clínica; Encarnación 87; Editorial Reverté S.A; ed.7^a; España 1987; pp.431
10. ORTIZ Gil, Miguel Ángel, U.C. Química Clínica Inmuno Hematología; ESTRADA Marquez, Ruth: Divulgaciones Científicas de la Química Clínica, 2005, pp.250

11. ROITT, Inmunología, Fundamentos; Editorial, Panamericana 2008; ed. 11ª; pp: 388
12. ROBLEDOS, G. B. (2009). Inmunología para el médico general; Complejo mayor de histocompatibilidad (pág. 86). Argentina: Departamento de Medicina Experimental, Facultad de Medicina, UNAM

LINKOGRAFÍA

1. <http://www.esacademic.com/dic.nsf/eswiki/990503>. Reacción, antígeno-anticuerpo.
2. <http://www.inmunologiaenlinea.es>
3. <http://www.inmunologiaenlinea.es/inmunologiaenlinea.es/index.php/site-map/03mmm-9/b>. Activación de linfocitos
4. http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/catedraMicro/08_Tema_10_Reacciones_ant%C3%ADgeno_anticuerpo
5. <http://www.paho.org/spanish/dd/ais/coredata.htm>.
6. <http://www.msd.com.ec/msdec/patients/prostata/tedonde.html>
7. <http://www.saludalia.com/Saludalia/servlets/contenido/jsp/parser.jsp?>
8. <http://www.ucm.es/tesis/19911996/D/2/AD2007001.pdf>
9. <http://www.vigilanciasanitaria.es//tesis/Aplicacion-de-los-anticuerpos>
10. http://www.esacademic.com/dic.nsf/es_mediclopedia/26709/antiglobulina
11. http://www.sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/tesis/salud/ccama_s_a/Bibliografia
12. <http://www.digital.csic.es/bitstream/1/Tesis%20Pedro%20Fernández%20Sotpdf>
13. [http://www.biblioteca.ucm.es/tesis/19911996/D/2/AD2007001.\(s.f\)](http://www.biblioteca.ucm.es/tesis/19911996/D/2/AD2007001.(s.f))
14. <http://mezzadoz2.blogspot.com/2009/04/resumen-de-antigeno.html>. (s.f).
15. [http://www.pisa.com.mx/publicidad/portal/enfermeria/manual/.htm\(s.f\)](http://www.pisa.com.mx/publicidad/portal/enfermeria/manual/.htm(s.f))

ANEXOS

LAVADO DE CÉLULAS CON SOLUCIÓN SALINA AL 9% EN EL LABORATORIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL.

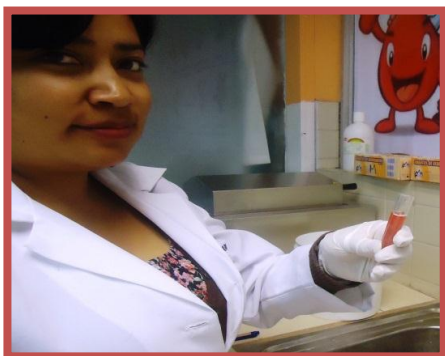


*Fuente: Laboratorio de Terapia Transfusional HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian*



*Fuente: Laboratorio de Terapia Transfusional HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian*

CENTRIFUGACIÓN DE LA MUESTRAS



*Fuente: Laboratorio de Terapia Transfusional HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian*



*Fuente: Laboratorio de Terapia Transfusional HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian*

DECANTACIÓN DE LA MUESTRA



*Fuente: Laboratorio de Terapia Transfusional HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian*

REACTIVOS PARA LAS PRUEBAS



Fuente: Laboratorio de Terapia Transfusional HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian



Fuente: Laboratorio de Terapia Transfusional HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian



Fuente: Laboratorio de Terapia Transfusional HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian



Fuente: Laboratorio de Terapia Transfusional HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian



Fuente: Laboratorio de Terapia Transfusional HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian

PRUEBAS DE PANTALLAS Y MULTIPANEL DE CÉLULAS FASE SALINA



*Fuente: Laboratorio de Terapia Transfusional HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian*



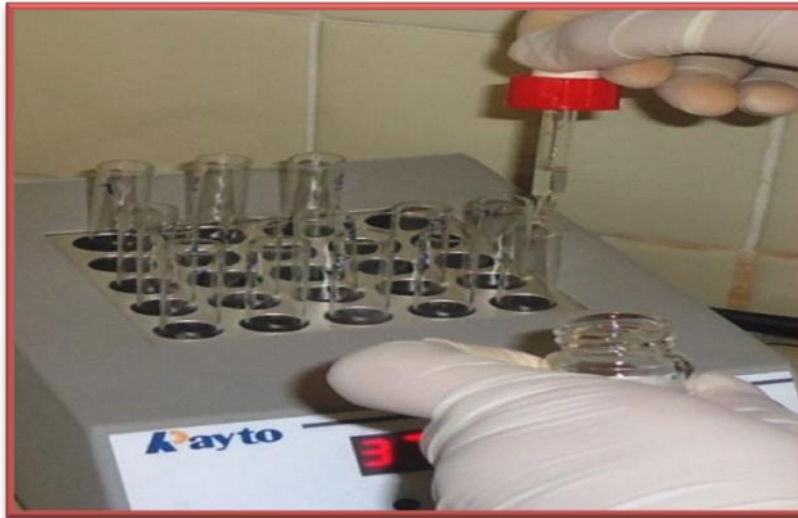
*Fuente: Laboratorio de Terapia Transfusional HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian*

PRUEBAS DE PANTALLAS Y MULTIPANEL DE CÉLULAS FASE LISS COLOCACIÓN DEL REACTIVO LISS ALAS PRUEBAS



*Fuente: Laboratorio de Terapia Transfusional HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian*

INCUBACIÓN DE LAS PRUEBAS EN LA FASE LISS



*Fuente: Laboratorio de Terapia Transfusional HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian*

PRUEBAS DE PANTALLAS Y MULTIPANEL DE CÉLULAS FASE COOMBS

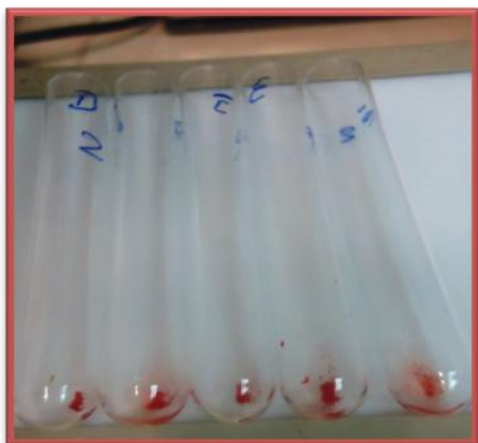


*Fuente: Laboratorio de Terapia Transfusional HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian*

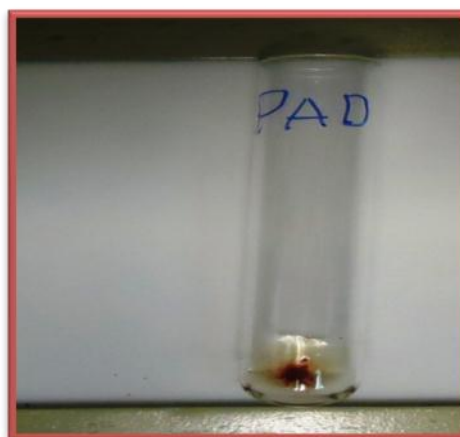


*Fuente: Laboratorio de Terapia Transfusional HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian*

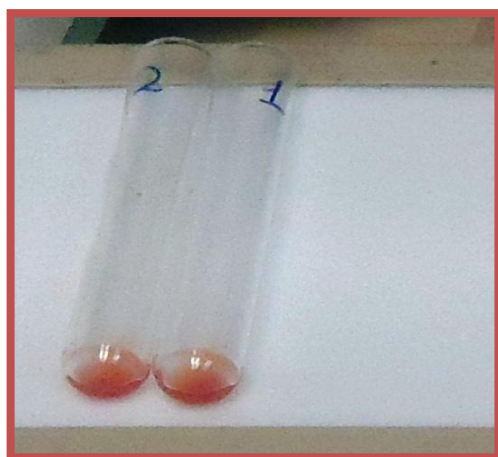
RESULTADOS DE AGLUTINACIÓN



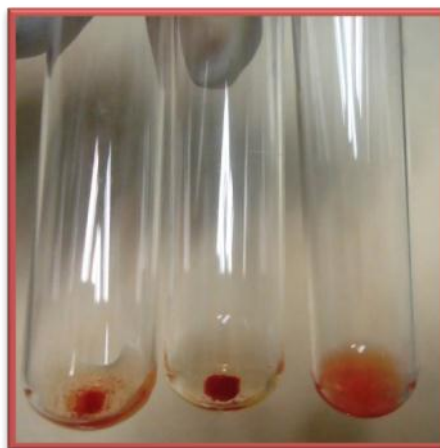
Fuente: Laboratorio de Terapia Transfusional HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian



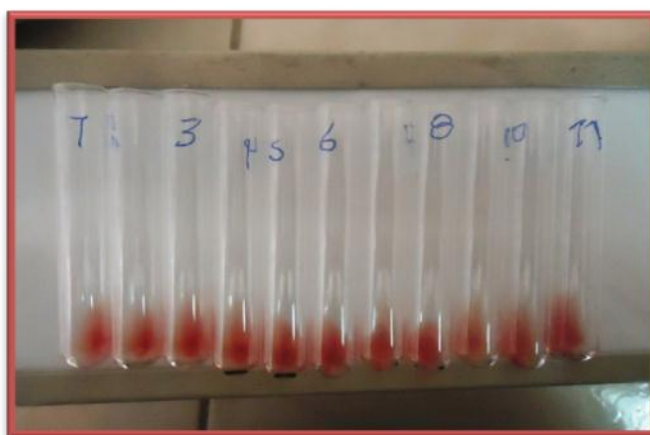
Fuente: Laboratorio de Terapia Transfusional HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian



Fuente: Laboratorio de Terapia Transfusional HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian



Fuente: Laboratorio de Terapia Transfusional HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian



Fuente: Laboratorio de Terapia Transfusional HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian

SISTEMA RH						
MUESTRA	ANTI-D	ANTI-C	ANTI-c	ANTI-E	ANTI-e	RESULTADO
40	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	RhDcE
41	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	RhDcE
42	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	RhDcE
43	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	RhDcE
44	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	RhDcE
45	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	RhDcE
46	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	RhDcE
47	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	RhDcE
48	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	RhDcE
49	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	RhDcE
50	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	Rhce
51	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	Rhce
52	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	Rhce
53	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	Rhce
54	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	Rhce
55	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	Rhce
56	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	Rhce
57	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	RhDCc
58	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	RhDCc
59	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	RhDCc
60	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	RhDCc
61	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	RhDCc
62	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	RhDCc
63	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	RhDCc
64	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	RhDCc
65	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	RhDCc
66	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	RhDCc
67	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	RhDce
<i>Fuente: Laboratorio de Terapia Transfusional HPGDR Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian</i>						

ANTIGLOBULÍNICA DIRECTA

MUESTRAS	TAD	CONTROL	RESULTADO
1	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
2	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
3	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
4	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
5	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
6	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
7	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
8	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
9	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
10	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
11	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
12	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
13	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
14	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
15	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
16	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
17	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
18	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
19	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
20	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
21	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
22	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
23	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
24	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
25	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
26	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
27	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
28	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
29	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
30	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
31	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
32	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
33	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
34	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
35	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
36	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
37	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
38	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
39	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
40	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO

41	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
42	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
43	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
44	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
45	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
46	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
47	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
48	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
49	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
50	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
51	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
52	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
53	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
54	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
55	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
56	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
57	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
58	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
59	POSITIVO	POSITIVO	ND
60	POSITIVO	POSITIVO	ND
61	POSITIVO	POSITIVO	ND
62	POSITIVO	POSITIVO	ND
63	POSITIVO	POSITIVO	ND
64	POSITIVO	POSITIVO	ND
65	POSITIVO	POSITIVO	ND
66	POSITIVO	POSITIVO	ND
67	POSITIVO	POSITIVO	ND

*Fuente: Laboratorio de Terapia Transfusional HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian*

PANTALLAS DE CÉLULAS FASE SALINA			
MUESTRAS	PANTALLAS 1	PANTALLAS 2	PANTALLAS 3
1	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
2	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
3	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
4	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
5	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
6	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
7	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
8	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
9	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO

*Fuente: Laboratorio de Terapia Transfusional HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian*

FASE LISS			
MUESTRAS	PANTALLAS 1	PANTALLAS 2	PANTALLAS 3
1	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
2	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
3	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
4	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
5	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
6	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
7	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
8	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
9	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO

*Fuente: Laboratorio de Terapia Transfusional HPGDR
Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian*

FASE COOMBS			
MUESTRAS	PANTALLAS 1	PANTALLAS 2	PANTALLAS 3
1	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
2	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
3	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
4	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
5	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
6	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
7	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
8	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
9	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO

*Fuente: Laboratorio de Terapia Transfusional HPGDR
 Autores: Quimbiulco Tatiana y Ramírez Lilian*

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

TIEMPO/ACTIVIDAD	MAYO				JUNIO				JULIO				AGOSTO				SEPTIEMBRE				OCTUBRE				NOVIEMBRE								
	SEMANA				SEMANA				SEMANA				SEMANA				SEMANA				SEMANA				SEMANA								
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	5
Presentación del tema de Tesina para su aprobación		x																															
Elaboración del proyecto							x																										
Desarrollo Capitulo 1									x																								
Elaboración Capitulo 2 Marco Teórico													x	x																			
Corrección capítulo 1 y 2																	x		x														
Elaboración del capítulo 3																											x						
Presentación al tutor									x				x				x				x								x				x
Presentación de correcciones									x				x				x				x				x				x				x
Recolección de datos																																	
					x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Elaboración del informe final																																	
Presentación al tutor																																	
Correcciones elaboradas																																	
Presentación del Informe final																																	