



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLOGÍA  
PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE LICENCIADO EN  
LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO**

**TEMA**

**“VALORACIÓN DE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS ANTI D CUANDO SE TRANSFUNDE CONCENTRADOS DE GLÓBULOS ROJOS TIPIFICADOS CON VARIANTES Rh D POSITVOS A PACIENTES TIPIFICADOS CON VARIANTES Rh D NEGATIVOS MEDIANTE LA REALIZACIÓN DE LA PRUEBA ANTIGLOBULÍNICA INDIRECTA UTILIZANDO MUESTRAS DE SANGRE DE PACIENTES ATENDIDOS EN EL SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL H.P.G.D.R. DURANTE EL PERÍODO DE MARZO - AGOSTO DEL 2013”**

**AUTOR**

**ALEX MOTOCHÉ**

**TUTOR**

**Lcdo. FERNANDO JARAMILLO**

**RIOBAMBA – ECUADOR**



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLOGÍA**

**PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE LICENCIADO EN  
LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO**

**PRESENTADO Y APROBADO ANTE EL TRIBUNAL  
CONFORMADO POR:**

**PRESIDENTE**

**MIEMBRO**

**MIEMBRO**

**RIOBAMBA 2015**

## ACEPTACIÓN DEL TUTOR

Por la presente, hago constar que he leído el protocolo del proyecto de grado presentado por Alex Javier Motoche Velín, para optar por el título de Licenciado en Laboratorio Clínico e Histopatológico y que acepto asesorar en calidad de tutor al ejecutor del proyecto de tesina, durante la etapa de desarrollo del trabajo hasta su presentación y evaluación.




---

Lcdo. Fernando Jaramillo G.

TUTOR

## DERECHOS DE AUTORIA

Yo Alex Javier Motoche Velín, soy responsable de las ideas, criterios, pensamientos y resultados expuestos en el presente trabajo investigativo y los derechos de autoría pertenecen a la **UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO**



140051219-8

## **AGRADECIMIENTO**

El eterno agradecimiento primero a Dios por guiarnos por el camino de la sabiduría, quien nos ha permitido tener experiencias y lograr triunfos en la vida, a mi madre por cuidarme, guiarme y permitirme estar en este lugar ,a mi esposa por estar siempre a mi lado, a los docentes de la Universidad Nacional de Chimborazo de la Escuela de Tecnología Médica por inculcarnos conocimientos y valores muy necesarios para afrontar desafíos que se presenten a futuro, a nuestros familiares por apoyarnos en la culminación de nuestra carrera profesional.

## **DEDICATORIA**

Esta dedicatoria va Primeramente a Dios por darme sabiduría, fortaleza y salud para cumplir con uno de mis retos y metas ya que todo se hace con su voluntad, a mi madre adorada que con sus consejos, sacrificio y apoyo incondicional supo empujarme a seguir adelante, a mi querida esposa por estar siempre conmigo y mis hermanos que también estuvieron impulsándome hasta culminar este reto.

Alex M.Velín

## RESUMEN

La presente investigación se realizó en la ciudad de Riobamba en el área de medicina transfusional del Hospital Provincial General Docente durante el periodo comprendido entre Marzo – Agosto del año 2013, en el que se valoró la presencia de aglutininas anti-D al transfundir concentrados hemáticos Rh D negativos/Du positivos a pacientes Rh D negativos/Du negativos mediante la realización de la prueba antiglobulínica indirecta (PAI). El propósito del trabajo es brindar un conocimiento acerca de la presencia de anticuerpos sanguíneos que deben ser rastreados y evaluados correctamente con el fin de evitar o reducir las reacciones transfusionales. Para ello se necesitó una identificación del antígeno D del sistema Rh a través de la tipificación sanguínea, luego una confirmación de los resultados Rh D negativos mediante la técnica Du y finalmente se realizó una interpretación de la presencia de anticuerpos anti- D mediante la prueba antiglobulínica indirecta para garantizar la compatibilidad transfusional. La investigación se caracteriza por ser de tipo descriptiva- explicativa de campo no experimental. Se obtuvieron como resultados muestras Rh D positivo 92 % y muestras RH D negativos 8% .Al aplicar la prueba antiglobulínica indirecta se logró identificar que las muestras de los pacientes Rh D negativos Du parciales poseen el anticuerpo anti-D mientras que las muestras Rh D negativas Du positivas poseen el antígeno D, al entrar en contacto estos reaccionan y generan una reacción in vitro con lo que se concluye que no se puede transfundir componentes hemáticos de pacientes Rh D parciales a pacientes Rh D positivos pero si a Rh D negativos.

**Palabras clave:** Anticuerpos irregulares, antígenos eritrocitarios, Coombs indirecto, Coombs directo, prueba cruzada mayor, prueba cruzada menor, antígeno, anticuerpo.



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

**ABSTRACT**

This research work has been done in the city of Riobamba in the blood transfusion area at Provincial General Teaching Hospital during the period from March to August 2013, the presence of agglutinins anti-d was valued at concentrates transfused Rh hematic D negative / positive patients Du Rh D negative / negative Du by performing the indirect antiglobulin test (PAI). The purpose of this paper is to provide information about the presence of blood antibodies that must be tracked and evaluated properly in order to avoid or reduce transfusion reactions. An identification of the Rh antigen D has been required through blood typing, then confirmation of Rh D negative results by Du interpretation technique and finally the anti-D antibodies was performed by antiglobulin test indirect transfusion to ensure compatibility. The research is characterized as explanatory descriptively field type, not experimental. Samples were obtained as results Rh D 92% positive samples and 8% negative RH D samples. When applying the indirect antiglobulin test was identified samples of Rh D negative patients Du partial possess anti-D while the Rh D samples negative positive Du possess the antigen D, upon contact they react and generate an in vitro reaction with which it has been concluded that it cannot transfused blood components from patients Rh D partial to Rh D positive patients but to Rh D negative.

**Keywords:** Irregular antibodies, erythrocyte antigens, indirect Coombs, Coombs direct, major crossmatch, minor crossmatch, antigen, antibody.

Translation reviewed by:

Dra. Fanny Zambrano V. MsC

ENGLISH TEACHER AT LANGUAGES CENTER FCS



Riobamba January 20<sup>th</sup>, 2015



## ÍNDICE GENERAL

INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I .....	3
1. PROBLEMATIZACIÓN .....	3
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	3
1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA. ....	4
1.3 OBJETIVOS.....	4
1.3.1 Objetivo general .....	4
1.3.2 Objetivos específicos.....	5
1.4 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA.....	5
CAPÍTULO II .....	7
<b>2. MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>7</b>
2.1 POSICIONAMIENTO PERSONAL. ....	7
2.2 FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	7
2.2.1 Principios para la práctica transfusional. ....	7
2.2.3 Teoría del potencial z. ....	14
2.2.4 Medios de reacción. ....	15
2.2.5 Factores que influyen sobre la sensibilización.....	16
2.2.6 Factores que influyen sobre la aglutinación.....	18
2.2.7 Antígenos .....	20
2.2.8 Anticuerpos.....	26
2.2.9 Pruebas antiglobulínicas. ....	48
2.2.10 Prueba antiglobulínica directa. ....	48
2.2.11 Prueba antiglobulínica indirecta.....	54
2.2.12 Pruebas de compatibilidad. ....	56
2.2.13 Identificación del receptor.....	59
2.2.14 Prueba cruzada mayor. ....	61
2.2.15 Prueba cruzada menor .....	64
2.2.16 Determinación del antígeno D .....	66

2.2.17 Variante Antigénica Du.....	68
2.2.18 Identificación de anticuerpos irregulares. ....	70
2.2.19 Valoración de las variantes Du.....	75
2.3 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS. ....	78
2.4 HIPÓTESIS Y VARIABLES.....	82
2.4.1 HIPÓTESIS .....	82
2.4.2 VARIABLES .....	82
2.5 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES .....	83
CAPÍTULO III .....	84
3 MARCO METODOLÓGICO.....	84
3.1 MÉTODO CIENTÍFICO .....	84
3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA.....	85
3.2.1 POBLACIÓN.....	85
3.2.2 MUESTRA.....	85
3.3 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS ..	85
3.4 TÉCNICAS PARA EL ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS. ....	86
CAPITULO IV .....	87
4. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS. ....	87
CAPÍTULO V .....	94
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	94
5.1 CONCLUSIONES.....	94
5.2 RECOMENDACIONES.....	95
BIBLIOGRAFÍA .....	96

## ÍNDICE DE GRÁFICOS ESTADÍSTICOS.

<b>GRÁFICO N°- 4.1</b>	CANTIDAD DE ENSAYOS RH D POSITIVOS Y NEGATIVOS.....	<b>87</b>
<b>GRÁFICO N°- 4.2</b>	CANTIDAD DE MUESTRAS ENSAYADAS POR MES .....	<b>88</b>
<b>GRÁFICO N°- 4.3</b>	CONFIRMACIÓN DE LA EXPRESIÓN D MEDIANTE LA PRUEBA DU.....	<b>89</b>
<b>GRÁFICO N°- 4.4</b>	VALORACIÓN DE ANTICUERPOS IRREGULARES MEDIANTE COOMBS INDIRECTO .....	<b>90</b>
<b>GRÁFICO N°- 4.5</b>	CONFIRMACIÓN DE LA EXPRESION D MADIANTE LA PRUEBA DU.....	<b>91</b>

## ÍNDICE DE TABLAS ESTADÍSTICAS

<b>TABLA N°- 4.1</b>	CANTIDAD DE ENSAYOS RH D POSITIVO Y NEGATIVO.....	<b>87</b>
<b>TABLA N°- 4.2</b>	CANTIDAD DE ENSAYOS REALIZADOS POR MES.....	<b>88</b>
<b>TABLA N°- 4.3</b>	CONFIRMACIÓN DE LA EXPRESIÓN D MEDIANTE LA PRUEBA DU .....	<b>89</b>
<b>TABLA N°- 4.4</b>	VALORACIÓN DE ANTICUERPOS IRREGULARES MEDIANTE COOMBS INDIRECTO.....	<b>90</b>
<b>TABLA N°- 4.5</b>	COMPATIBILIDAD RH D POSITIVO PARCIAL CON MUESTRAS RH D NEGATIVAS Y RH D POSITIVAS .....	<b>91</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N°- 2.1: TRANSFUSIÓN DE PAQUETES GLOBULARES.....	7
FIGURA N°- 2.2: UNIÓN DE ANTÍGENOS Y ANTICUERPOS – AGLUTINACIÓN. ....	9
FIGURA N°- 2.3: INMUNOGLOBULINA. ....	10
FIGURA N°- 2.4: TIPIFICACIÓN SANGUÍNEA. ....	11
FIGURA N°- 2.5: AGLUTINACIÓN PASIVA. ....	13
FIGURA N°- 2.6: ÁCIDO SIÁLICO SEPARADO MEDIANTE ENZIMAS. ....	14
FIGURA N°- 2.7: POTENCIAL Z.....	15
FIGURA N°- 2.8: SOLUCIONES DE BAJA FUERZA IÓNICA. ....	15
FIGURA N°- 2.9: REACCIÓN DE ANTÍGENO- ANTICUERPO. ....	19
FIGURA N°- 2.10: FORMAS DE EPÍTOPOS. ....	22
FIGURA N°- 2.11: ANTÍGENOS MULTIVALENTES. ....	24
FIGURA N°- 2.12: ESTRUCTURA DE LOS ANTICUERPOS. ....	28
FIGURA N°- 2.13: ESTRUCTURA BÁSICA DE INMUNOGLOBULINAS.....	29
FIGURA N°- 2.14: INMUNOGLOBULINA DE CADENAS LIGERAS Y PESADAS. ....	30
FIGURA N°- 2.15: ESTRUCTURAS BÁSICAS DE INMUNOGLOBULINAS G,A,M,D Y E. ....	33
FIGURA N°- 2.16: REGIONES HIPERVARIABLES DE LAS INMUNOGLOBULINAS G.....	36
FIGURA N°- 2.17: INMUNOGLOBULINA A DIMERIZADA. ....	37
FIGURA N°- 2.18: ANTISUEROS HOMÓLOGOS.....	39
FIGURA N°- 2.19: ESQUEMA DE FORMACIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-IDIOTIPO. ....	41
FIGURA N°- 2.20: NIVELES SÉRICOS DE IGS EN PORCENTAJE. ....	44
FIGURA N°- 2.21: ESTRUCTURA DE INMUNOGLOBULINA G. ....	45
FIGURA N°- 2.22: ESTRUCTURA DE UNA INMUNOGLOBULINA A.....	46
FIGURA N°- 2.23: ESTRUCTURA DE INMUNOGLOBULINA M. ....	47
FIGURA N°- 2.24: ESTRUCTURA DE UNA INMUNOGLOBULINA D.....	47
FIGURA N°- 2.25: ESTRUCTURA DE UNA INMUNOGLOBULINA E. ....	48
FIGURA N°- 2.26: SISTEMA ABO. ....	60

FIGURA N°- 2.27: IDENTIFICACIÓN DEL RECEPTOR.....	61
FIGURA N°- 2.28: VARIANTE DU.....	69
FIGURA N°- 2.29: REPRESENTACIÓN DU ADQUIRIDO.....	69
FIGURA N°- 2.30: ANTÍGENOS NORMAL HEREDITARIO.....	70

## INTRODUCCIÓN

Esta tesina tiene una presentación inicial de conocimientos básicos acerca de los anticuerpos o aglutininas que son elementos de gran importancia del tejido sanguíneo y están directamente involucrados en las reacciones producidas por la transfusión de sangre. En el siglo XVII William Harvey quien describió la circulación y propiedades de la sangre, fue el pionero en el estudio de transfusiones sanguíneas en animales sin tener éxito.

En 1667 Jean Baptiste realizó la primera transfusión exitosa entre un animal y un ser humano, en 1891 los anticuerpos fueron descritos por primera vez por Paul Ehrlich y hasta el momento son considerados como proteínas producidas por el sistema inmunológico que reaccionan frente a la presencia de antígenos o sustancia ajenas al organismo. Para 1901 Karl Landsteiner descubre los grupos sanguíneos y compatibilidad del sistema ABO, entre 1914 y 1918 se descubrió los anticoagulantes con lo cual se logró preservar la sangre, durante la segunda guerra mundial la transfusión sanguínea tuvo un gran auge para tratar a soldados heridos.

Actualmente las transfusiones sanguíneas han tenido una gran evolución sin embargo es importante saber que al introducir cualquier material extraño en el organismo puede generar reacciones, que están desencadenadas por anticuerpos naturales o adquiridos mediante sensibilización, es por esta razón que nace el descubrimiento de pruebas de laboratorio que se utilizan en los bancos de sangre y servicios transfusionales para asegurar y garantizar que la sangre o sus componentes a transfundir sean compatibles, favoreciendo así que los riesgos de transfusión sean mínimos o nulos.

Con esta investigación se espera contribuir con información valiosa y de gran utilidad para concientizar que la práctica transfusional es compleja y el

personal de salud involucrado debe conservar una notable responsabilidad, con el fin de evitar que se presente errores tanto en las pruebas de laboratorio como al momento de transfundir.

En nuestro estudio se evidenciara que estas reacciones transfusionales están originadas por una variedad de anticuerpos que normalmente no son identificados en su totalidad, al aplicar la prueba antiglobulínica indirecta (PAI) se expondrá la presencia o ausencia de estos anticuerpos que la mayoría de personas no poseen en su suero.

La indagación de anticuerpos irregulares constituye una de las prácticas de mayor interés en el campo de la Inmunohematología y su incidencia se ha calculado entre 0,3 a 2% dependiendo del grupo de individuos examinados en determinados sectores.

Los resultados de estas pruebas en numerosas ocasiones suelen ser falsos positivos porque penden del tipo de método empleado, calidad de reactivos entre otros factores que se generan durante su estudio, es por tal motivo que se ha propuesto este tema de gran importancia.

El presente trabajo investigativo posee un marco de referencia en el que manifiesta el planteamiento del problema, los objetivos generales y específicos, la justificación del tema, un adecuado marco teórico, conclusiones y recomendaciones.

## **CAPÍTULO I**

### **1. PROBLEMATIZACIÓN**

#### **1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La existencia de aglutininas naturales o adquiridas en la sangre de los donantes y receptores que pueden tener o no historial de transfusiones y debido a la existencia de diferentes patologías en el tejido sanguíneo requieren de la transfusión como única alternativa para preservar su vida. Desde siglos anteriores se lograron estos procedimientos con éxito, aunque en diversas ocasiones no resultaba favorable por el desconocimiento y falta de estudios específicos para aplicar una correcta administración sanguínea, frente a esta problemática los bancos de sangre y servicios transfusionales juegan un papel de vital importancia para garantizar la calidad, eficacia y disponibilidad de la sangre o sus componentes. Actualmente existen procedimientos que se realizan previo a cada transfusión ya que normalmente las muestras son sometidas a una serie de pruebas que al final asegura la compatibilidad entre la persona que dona y el candidato a receptor. Cuando no existe compatibilidad se produce una hemólisis intravascular, situación grave que afecta la calidad de vida del paciente, inclusive puede presentarse resultados fatales como por ejemplo en la incompatibilidad ABO. De esta manera los bancos de sangre indican que los donantes deben tener una evaluación minuciosa tanto de sus antígenos como de sus anticuerpos de forma exhaustiva para evitar la generación de reacciones transfusionales. Los resultados de las técnicas empleadas para la identificación de los antígenos de los grupos sanguíneos dependen de la calidad de los reactivos, los procedimientos utilizados, la sensibilidad y especificidad de la prueba, considerando que algunos antígenos tienen variación en su concentración o carga antigénica lo que hace que los



resultados reflejen falsos negativos. Incluso la identificación del sistema Rh con sus variaciones antigénicas está sujeto a muchos errores por la necesidad que tienen los antígenos de reaccionar en ciertas condiciones específicas que en ocasiones no se toma en cuenta al aplicar la prueba como son la temperatura adecuada, medios de reacción, enzimas, etc. Estas particularidades son de vital importancia sobre todo cuando se evalúa la ausencia de estos antígenos con la finalidad de evitar expresiones de anticuerpos mediante sensibilización, o lo más complicado seguir exponiendo al paciente transfundido esta carga antigénica que ocasionará reacciones transfusionales inmediatas o tardías, es por ello que se experimenta la transfusión mediante ensayos in Vitro de personas con variaciones de estas cargas antigénicas para poder detectar la presencia o ausencia de éstas aglutininas.

## 1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.

¿Con la realización de la prueba antiglobulínica indirecta se puede evaluar la presencia de anticuerpos anti-D cuando se transfunde concentrados de glóbulos rojos tipificados con variantes Rh D positivos a pacientes tipificados con variantes Rh D negativos?

## 1.3 OBJETIVOS.

### 1.3.1 Objetivo general

Valorar la presencia de anticuerpos anti-D cuando se transfunde concentrados de glóbulos rojos tipificados con variantes Rh D positivos a pacientes tipificados con variantes Rh D negativos mediante la realización de la prueba antiglobulínica indirecta utilizando muestras de sangre de

pacientes atendidos en el servicio de medicina transfusional del H.P.G.D.R. durante el período de marzo - agosto del 2013

### **1.3.2 Objetivos específicos.**

- Identificar al antígeno D del sistema Rh mediante la tipificación sanguínea directa, técnica en tubo.
- Confirmar resultados Rh D negativos, mediante la aplicación de la técnica Du.
- Interpretar mediante la prueba antiglobulínica indirecta (PAI) la presencia de anticuerpos anti-D para garantizar la compatibilidad transfusional.

### **1.4 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA.**

Toda transfusión implica riesgos sanitarios algunos más severos que otros sin embargo los avances tecnológicos han permitido el estudio minucioso de la sangre en su composición antigénica y sérica para identificar claramente la presencia de los antígenos y anticuerpos que componen los sistemas de grupos sanguíneos. En el sistema de grupo sanguíneo Rh existe una variedad de combinaciones antigénicas, que en algunos casos y sumado a estos con las condiciones de salud del paciente a transfundirse, pueden dar falsos resultados que comprometan el estado inmunológico del paciente.

Tradicionalmente se identifica al antígeno D del sistema Rh pero la mayor parte de los laboratorios no se ven comprometidos en hacerlo como los servicios de sangre que si validan los resultados y extienden la identificación de la carga antigénica por las mutaciones que sufren estos antígenos. Cuantiosas reacciones por incompatibilidad de Rh se han demostrado por una mala interpretación de sus resultados, sobre todo cuando en la

membrana del hematíe existen variaciones de cargas antigénicas o por embarazos bajo estas mismas características.

La importancia de este tema se enfoca en la valoración de la presencia de aglutininas anti - D en pacientes que acuden al servicio de medicina transfusional del Hospital Provincial General Docente de Riobamba, mediante la aplicación de la prueba antiglobulínica indirecta ya que la existencia de anticuerpos irregulares en la sangre representa un problema médico al momento de realizar la transfusión sanguínea y mediante esta propuesta se pueda brindar información de vital importancia al personal de salud indicando que debe haber una correcta investigación de anticuerpos tanto en muestras del donante como del receptor para dotar de transfusiones seguras y exitosas a los pacientes que son los directamente beneficiados de este trabajo .

La realización de esta investigación es completamente viable, porque se cuenta con los recursos necesarios, el apoyo del docente tutor brindando su experiencia y conocimiento en esta área de salud, además habiendo una completa predisposición particular para llevar a cabo el desarrollo sistemático, responsable con énfasis en obtener los resultados de nuestro planteamiento siempre encaminados en la bibliografía empleada para esta investigación.



- Verificación de que se han obtenido los datos completos de identificación y del resultado del examen médico del candidato a donador en la historia clínica correspondiente.
- Comprobación de que los datos de identificación de la documentación correspondiente al donador son los mismos que identifican las muestras de sangre utilizadas para la selección y clasificación, así como los anotados en las etiquetas de identificación de la bolsa con la sangre recolectada.
- Comprobación de que los resultados aprobatorios de la investigación de microorganismos transmisibles por la sangre corresponden a la persona cuyos datos identifican la bolsa de sangre disponible para transfusión.
- Comprobación de que el mezclador de sangre funciona correctamente y que se obtiene el peso adecuado de la mezcla sangre más anticoagulante.
- Verificación de que cada uno de los componentes separados de la sangre llenan las características que aseguran su calidad terapéutica de acuerdo con las normas oficiales.
- Verificación de que se han aplicado periódicamente las técnicas de control de la asepsia de la piel y de la esterilidad de la sangre recolectada.

- Todos los bancos de sangre están obligados a practicar las medidas de control que aseguren la calidad de la sangre terapéutica. Estas medidas deben aplicarse en proporción al número de unidades obtenidas regularmente.

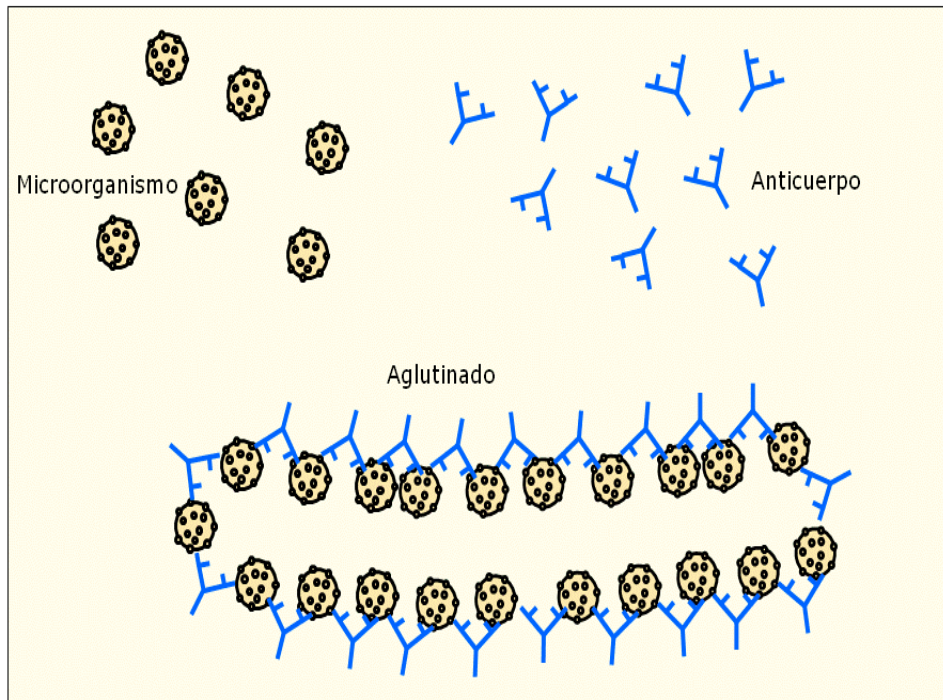
Todo funcionario debe recibir una capacitación inicial y capacitación continua para asegurar que cuenta con la habilidad necesaria para realizar la tarea asignada. Deben existir registros que demuestren el cumplimiento de los

requisitos de entrenamiento. Se debe evaluar la efectividad de los programas periódicamente. *Rodríguez, Quintanar y Mejía (2004).*

### 2.2.2 Reacción de aglutinación.

Las reacciones de aglutinación y de precipitación son la base de la mayor parte de las técnicas inmunológicas. Su principio se basa en la reacción antígeno-anticuerpo.

Figura N°- 2.2: Unión de antígenos y anticuerpos – Aglutinación.

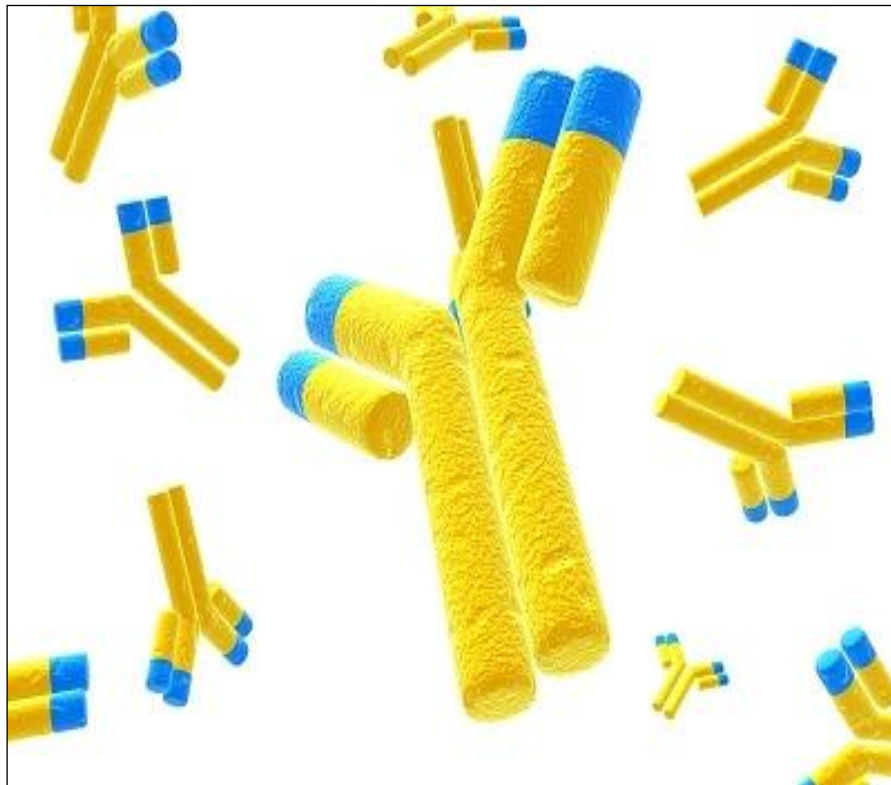


Fuente: ([http://web.educastur.princast.es/proyectos/biogeo\\_ov/2BCH/B5\\_MICRO\\_INM/T52\\_INMUNOLOGIA/informacion.htm](http://web.educastur.princast.es/proyectos/biogeo_ov/2BCH/B5_MICRO_INM/T52_INMUNOLOGIA/informacion.htm))

Para comprender lo anterior es necesario definir qué es un antígeno y un anticuerpo. Antígeno es una sustancia de alto peso molecular con cierta rigidez estructural y que tiene la particularidad de ser parcialmente “metabolizado” por células especializadas llamadas macrófagos por lo tanto

es capaz de generar una respuesta inmune en un organismo que la detecte como un agente extraño. Mientras que un anticuerpo es una glicoproteína, producida por linfocitos B activados llamados células plasmáticas como respuesta a la presencia de un antígeno en el organismo, a su vez los anticuerpos pueden ser producidos por líneas celulares *in vitro*, como es el caso de la producción de anticuerpos monoclonales. Dichos anticuerpos llamados también inmunoglobulinas, se presentan en cinco clases principales, IgG, IgM, IgA, IgD e IgE, que se diferencian entre sí por sus características físicas, químicas y biológicas.

**Figura N°- 2.3: Inmunoglobulina.**



Fuente: <http://www.escuelapedia.com/anticuerpos/>

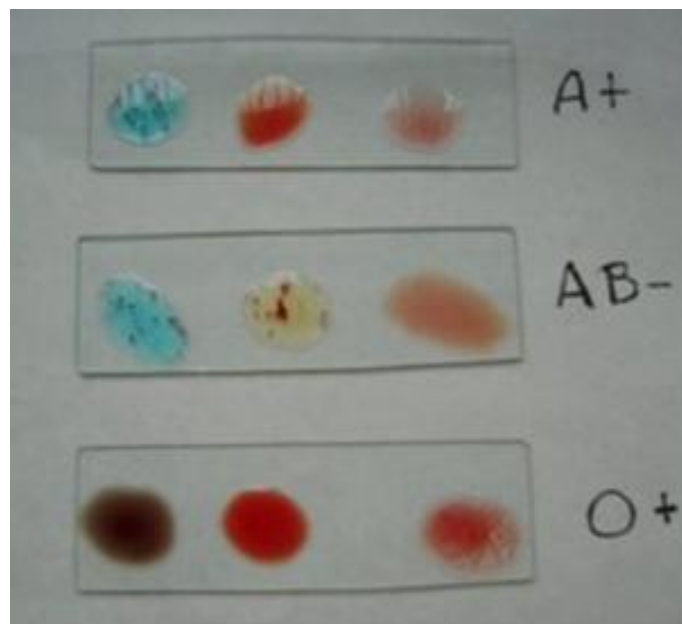
Las reacciones de precipitación son medibles en cantidad y son fáciles de ejecutar mientras que las técnicas de aglutinación son sólo semicuantitativas y algo más difíciles.

La aglutinación de los antígenos nativos insolubles o de las partículas recubiertas por el antígeno puede evaluarse a simple vista con o sin la ayuda del microscopio. Entre las ventajas de las reacciones de aglutinación están su alto grado de sensibilidad y la enorme variedad de sustancias identificables a través del uso de partículas que están recubiertas por antígeno o por anticuerpo.

Según Coombs existen 3 requerimientos principales en las pruebas de aglutinación:

- Disponibilidad de una suspensión estable de células o de partículas.
- Presencia de uno o más antígenos cercanos a la superficie.
- Conocimiento de que los anticuerpos "incompletos" o no aglutinables no son localizables sin modificación (reacciones antiglobulina). *Aguilar(2004)*.

Figura N°- 2.4: Tipificación Sanguínea.



Fuente: (<http://mesa8labd.blogspot.com/2009/10/pruebas-pretransfusionales.html>)

**Tipos de reacciones de aglutinación según las características de las partículas aglutinantes:**



De acuerdo a las características de las partículas aglutinantes, las reacciones de aglutinación pueden clasificarse en:

- reacciones de aglutinación
- reacciones de aglutinación pasiva.

Las reacciones de aglutinación activa se basan en el empleo de la partícula aglutinante como antígeno. Como ejemplos podemos mencionar:

**Tabla 1. Ejemplos de aglutinación activa.**

<b>Partícula aglutinante</b>	<b>Reacción</b>	<b>Utilidad diagnóstica</b>
<b>Glóbulos rojos</b>	<b>Coombs indirecta</b>	<b>Determinación de sensibilización por incompatibilidad Rh</b>
<b>Glóbulos rojos</b>	<b>Coombs directa</b>	<b>Determinación de eritroblastosis fetal</b>

Fuente: (<http://www.fmed.uba.ar/depto/microbiologia/guia01.pdf>)

Las reacciones de aglutinación pasiva se basan en el empleo de una partícula aglutinante inerte a la cual se la ha unido un antígeno. Como ejemplo podemos mencionar:

**Tabla 2. Ejemplo de aglutinación.**

<b>Partícula aglutinante</b>	<b>Reacción</b>	<b>Utilidad diagnóstica</b>
Látex + estreptolisina O	ASTO	Búsqueda de anticuerpo antiestreptolisina O en sueros humanos (infección por estreptococo hemolítico)

Fuente: (<http://www.fmed.uba.ar/depto/microbiologia/guia01.pdf>)

## **Tipos de reacciones de aglutinación pasiva según la identidad de la especie “pegada” a las partículas aglutinantes:**

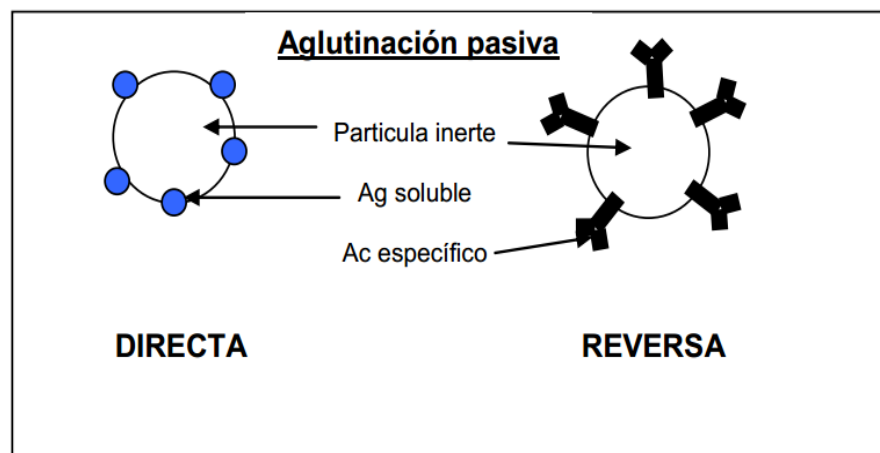
Considerando que es posible inmovilizar muchos tipos diferentes de proteínas a distintos tipos de partículas inertes, permitiendo así clasificar las reacciones de aglutinación pasiva en:

- Reacciones de aglutinación pasiva directa
- Reacciones de aglutinación pasiva reversa.

Las reacciones de aglutinación directa se basan en la sensibilización de la partícula inerte con el antígeno, por lo que resultan útiles para la detección y titulación de anticuerpo en distintos fluidos biológicos.

Por el contrario, las reacciones de aglutinación reversa se basan en la inmovilización del anticuerpo (en general, se inmoviliza un anticuerpo monoclonal) en la superficie de la partícula inerte, siendo este tipo de reacciones particularmente útiles para la detección de antígenos en distintas muestras biológicas. *Fiorentino, Rueda y Gutierrez( 1994)*

**Figura N°- 2.5: Aglutinación pasiva.**

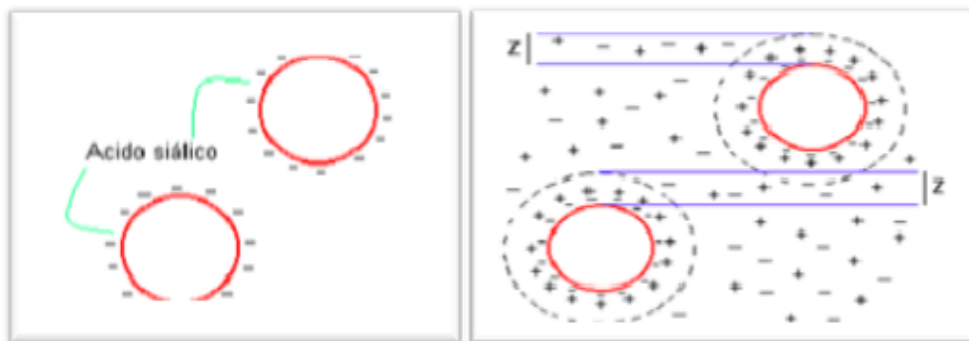


Fuente: <http://www.fmed.uba.ar/depto/microbiologia/guia01.pdf>

### 2.2.3 Teoría del potencial z.

Existen varias teorías para explicar por qué los hematíes no aglutinan en condiciones normales. La teoría del potencial Zeta es la más aceptada. La superficie de los glóbulos rojos tiene carga eléctrica negativa debido a las moléculas de ácido siálico de la membrana. Cuando los hematíes están en suspensión en soluciones que contienen iones libres, los cationes son atraídos por las cargas negativas de la superficie del glóbulo rojo, de modo que se forma una nube iónica positiva alrededor de los glóbulos rojos que, por estar constituida por cargas eléctricas del mismo signo creará una repulsión entre los eritrocitos. Esta repulsión se conoce con el nombre de potencial zeta. El potencial zeta puede ser alterado por la variación de la carga de los hematíes o por la variación en la concentración de cationes libres en el medio de suspensión. Los cambios indicados pueden afectar a la sensibilización y a la aglutinación. Si se disminuye la densidad de la nube de cationes, los anticuerpos pueden acercarse más fácilmente a la superficie de los hematíes, favoreciendo así a la sensibilización de los mismos. La reducción del potencial zeta permite un mayor acercamiento entre los hematíes con lo cual se facilita la aglutinación. Las enzimas separan algo de las cargas negativas de los glóbulos rojos, lo cual da lugar a una nube de cationes más pequeña.

Figura N°- 2.6: Ácido siálico separado mediante enzimas.

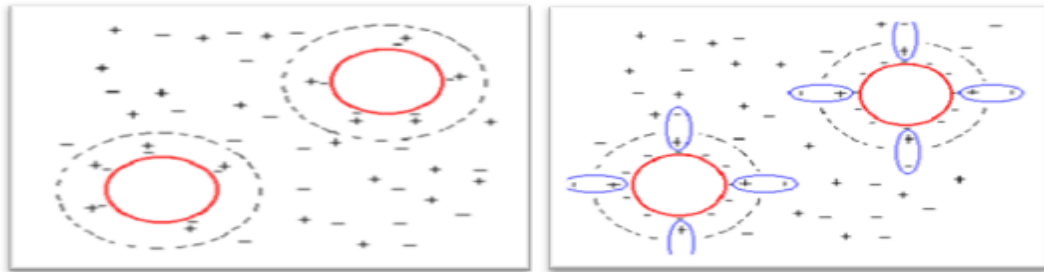


Fuente: <http://es.scribd.com/doc/105712174/16/Teoria-del-potencial-Zeta>

## Introducción de albúmina bipolar

La albúmina dispersa a algunas de las cargas positivas situadas alrededor de los glóbulos rojos, por lo tanto habrá menos cationes rodeando a los hematíes y el potencial zeta disminuirá.

Figura N°- 2.7: Potencial Z.



Fuente: <http://es.scribd.com/doc/105712174/16/Teoria-del-potencial-Zeta>

### 2.2.4 Medios de reacción.

Son sustancias que mejoran la aglutinación con el fin de detectar la presencia de anticuerpos o antígenos en la muestra de sangre de un paciente.

Figura N°- 2.8: Soluciones de baja fuerza iónica.



Fuente: <http://www.immucor.com/es-es/Products/Paginas/Potentiators.aspx>

### **Albumina**

- Reduce la repulsión entre células (potencial Z) favoreciendo la aglutinación.
- Hace posible que Anticuerpos IgG sean capaces de unir hematíes adyacentes.

### **Enzimas**

- Bromelina, ficina, papaina, tripsina, pronasa y neurominidasa.
- Reducen la carga negativa. Hacen aglutinantes a los Anticuerpos IgG.
- Mejoran el acceso a los lugares antigénicos.

### **Moléculas cargadas positivamente**

- Son polímeros que aportan un exceso de carga positiva; polybrene, sulfato de protamina, poli-L-Lisina, que pueden producir una aglutinación espontánea.
- Pueden dar falsos positivos.

### **PEG**

- Es un polímero soluble que potencia la reacción Antígeno - Anticuerpo eliminando el agua que hay alrededor de los hematíes.
- Útil para la detección de Anticuerpos de clase Inmunoglobulina G. *Henry (2010)*

### **2.2.5 Factores que influyen sobre la sensibilización.**

#### **Proporción relativa del antígeno y del anticuerpo.**

Es más probable que se produzca la sensibilización cuando el anticuerpo se halla en concentración

Esto puede lograrse aumentando la proporción del suero (que contiene el anticuerpo) en relación con los hematíes (que contienen el antígeno).

### **PH del medio donde se produce la reacción.**

El punto isoeléctrico de la mayoría de los anticuerpos es aproximadamente 7,5. A un pH inferior al punto isoeléctrico el anticuerpo tiene carga positiva. Esto facilita su unión con los eritrocitos (carga negativa). Por esta razón el pH óptimo para la sensibilización está entre 6,5 y 7,5.

### **Temperatura.**

Las reacciones antígeno – anticuerpo son exotérmicas; por lo tanto, a temperaturas más bajas la velocidad de reacción disminuye y existe menor grado de fijación de anticuerpo. Para acelerar la reacción, las pruebas de rutina se realizan a 37°C. La temperatura también puede afectar la accesibilidad del antígeno situado en la membrana del glóbulo rojo.

Algunos anticuerpos del tipo Inmunoglobulina M se fijan a sus correspondientes antígenos a temperaturas inferiores a 37°C. Dichos anticuerpos se denominan anticuerpos fríos. Esta influencia de la temperatura se explica porque dependiendo de la misma se producen cambios de configuración en el antígeno. A temperaturas más bajas quedan expuestos más lugares antigénicos permitiendo un aumento de la fijación de Inmunoglobulina M al glóbulo rojo. La mayoría de estos anticuerpos no tienen significación clínica alguna.

Con objeto de evitar la interferencia de estos anticuerpos, las pruebas de compatibilidad pretransfusionales se efectúan a 37°C, temperatura que permite detectar además a los anticuerpos clínicamente significativos.

### **Potencial iónico del medio.**

Cuando los hematíes están en suspensión salina de bajo potencial iónico, la nube de cationes que rodea a los hematíes es menos densa que si éstos

están suspendidos en suero isotónico normal. La concentración disminuida de cationes alrededor de los glóbulos rojos permite a las moléculas de anticuerpo tener más fácil acceso a los lugares antigénicos de la membrana eritrocitaria, aumentando así la tasa de sensibilización.

### **2.2.6 Factores que influyen sobre la aglutinación.**

La aglutinación se produce cuando los hematíes están lo bastante próximos para permitir a una molécula de anticuerpo hacer de puente entre células adyacentes. Este proceso puede estar afectado por varios factores entre los que se incluyen las propiedades del medio utilizado para la suspensión globular y las características del antígeno y del anticuerpo.

#### **Potencial iónico del medio.**

Si bien la sensibilización aumenta cuando los glóbulos rojos están en suspensión salina de bajo potencial iónico, la aglutinación de estos glóbulos rojos sensibilizados se ve desfavorecida por un aumento del potencial Zeta. La densidad de la nube iónica alrededor de los eritrocitos disminuye cuando el potencial iónico desciende; ahora, el espesor de la nube aumenta por ser menor la concentración de iones en el medio.

Esto se traduce en un aumento del potencial Zeta y por lo tanto, la aglutinación se hace más difícil. Para aumentar la aglutinación, se debe separar a los eritrocitos de este medio, lavándolos con suero salino isotónico normal.

#### **Tratamiento enzimático de los eritrocitos.**

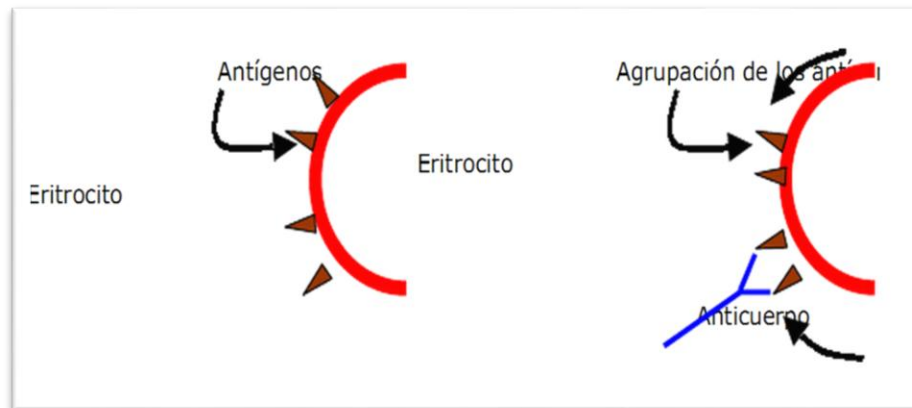
Las enzimas disminuyen el potencial Zeta de los glóbulos rojos porque separan las moléculas de ácido siálico de la superficie. La disminución de la carga superficial de los glóbulos rojos permite un mayor acercamiento de éstos, facilitando su aglutinación por las moléculas de anticuerpo. Hay que

tener en cuenta que algunos antígenos de superficie como M, N,  $FY^a$ ,  $FY^b$ , son destruidos por el tratamiento enzimático; en estos casos, si el anticuerpo es dirigido contra estos antígenos, no va a producirse la aglutinación.

### **Presencia de albúmina en el medio.**

La albúmina facilita la aglutinación por disminuir el potencial Zeta.

**Figura N° - 2.9: Reacción de Antígeno- Anticuerpo.**



Fuente: (<http://es.scribd.com/doc/105712174/16/Teoria-del-potencial-Zeta>)

### **Temperatura.**

La mayoría de las pruebas que se basan en reacciones entre antígenos y anticuerpos eritrocitarios se efectúan a 37°C.

### **Densidad del antígeno.**

Cuanto mayor es el número de antígenos en la superficie del eritrocito, mayor es el grado de sensibilización. La fijación de moléculas de anticuerpos agrupación y movilidad de los antígenos disminuye el potencial Zeta y aumenta la aglutinación. Por otra parte la mayor densidad del antígeno también aumenta las probabilidades de que el anticuerpo pueda establecer puente entre los hematíes.

### **Agrupación y movilidad de los antígenos.**



La situación próxima de los antígenos en la membrana eritrocitaria facilita la aglutinación ya que supone un mayor número de probabilidades para la fijación del anticuerpo en el lugar antigénico determinado. Algunos antígenos (Rh) solamente están agrupados después del tratamiento enzimático. Otros antígenos pueden ser arrastrados a través de la membrana por la acción de anticuerpos pasando así a formar agrupaciones.

### **Características del anticuerpo.**

La capacidad de un anticuerpo para aglutinar a los hematíes depende de la clase de inmunoglobulina a que pertenece. La molécula de Inmunoglobulina M tiene mayor tamaño que la de Inmunoglobulina G, siendo la más efectiva para producir aglutinación. A pesar de ello, la molécula de Inmunoglobulina G puede ser modificada químicamente para aumentar su envergadura y mejorar su capacidad de aglutinación. *Henry(2010)*

### **2.2.7 Antígenos**

Es la molécula capaz de inducir una respuesta inmune, por lo cual se le conoce también como inmunógeno. Pueden ser de origen externo, como los originados por la degradación de microorganismos fagocitados, o internos como los que se generan en las células que han sido invadidas por un virus o que sufren una degeneración maligna. En su origen el término antígeno se usaba para cualquier molécula que indujeran a las células B a producir anticuerpos específicos (anticuerpo generador). Ahora se utiliza este término de forma más extensa para indicar las moléculas que reconocen específicamente los receptores de antígenos de las células B o las células T.

Los antígenos definidos en líneas generales son moléculas que desencadenan las respuestas inmunitarias adaptativas (por ejemplo,

componentes de los microorganismos patógenos), aunque los puristas pueden preferir el término inmunógeno en este contexto.

Los antígenos no son sólo componentes de sustancias extrañas, como los patógenos. Una gran variedad de moléculas «propias» también pueden actuar como antígenos, provocando respuestas autoinmunitarias que pueden ser muy dañinas e incluso letales. *Male( 2007)*

### **Naturaleza química de inmunógenos**

Los antígenos son usualmente proteínas o polisacáridos. Esto incluye partes de bacterias (cápsula, pared celular, flagelos, fimbrias, y toxinas), de virus y otros microorganismos. Los lípidos y ácidos nucleicos son antigénicos únicamente cuando se combinan con proteínas y polisacáridos. Los antígenos no microbianos exógenos (ajenos al individuo) pueden incluir polen, clara de huevo, y proteínas de tejidos y órganos trasplantados, o proteínas en la superficie de glóbulos rojos transfundidos. Cada antígeno está definido por su anticuerpo, los cuales interactúan por complementariedad espacial. La zona donde el antígeno se une al anticuerpo recibe el nombre de epítipo o determinante antigénico, mientras que el área correspondiente de la molécula del anticuerpo es el paratopo.

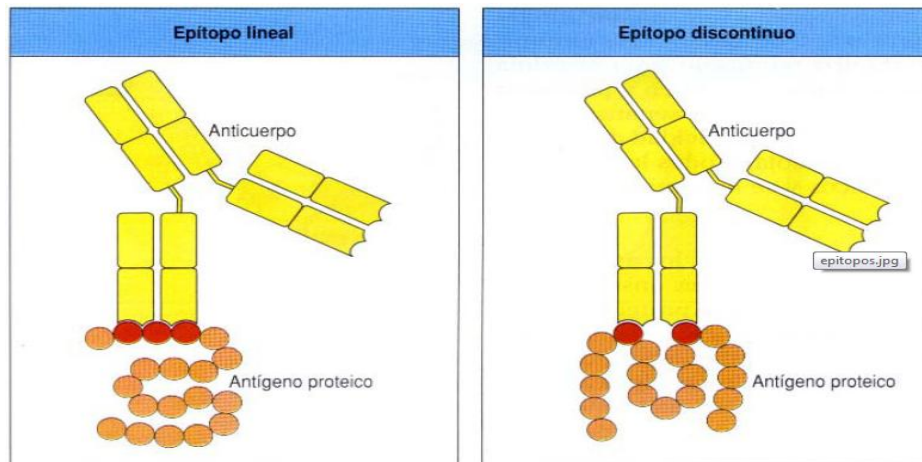
En el Antígeno hay regiones inmunodominantes a las que se unen la mayoría de los anticuerpos. Estas regiones se localizan en la zona externa del Antígeno, como las asas peptídicas que carecen de estructuras rígidas. También se han encontrado estas características en zonas móviles, donde existe una cierta flexibilidad del epítipo y las regiones CDR del Anticuerpo pueden alcanzar la energía óptima de unión denominándose como Acomodación *Tortora, Funke y Case( 2007)*.

**Epítipo o determinante antigénico.** Es la unidad más pequeña de un antígeno que puede ser identificada por el sistema inmune.

Puede ser:

- **Epítipo lineal:** Una secuencia lineal de aminoácidos dentro de una proteína.
- **Epítipo conformacional (discontinuo).** Aminoácidos que sin estar contiguos (correlativos) en la estructura lineal, se organizan espacialmente muy próximos debido al plegamiento (estructura conformacional terciaria o tridimensional de la proteína).

Figura N°- 2.10: Formas de Epítipos.



Fuente:(<http://inmunogeneraluvatemala1.wikispaces.com>)

**Antígeno multivalente.** Es aquel antígeno que posee varios epítipos. Estos epítipos pueden ser diferentes o ser el mismo repetido muchas veces. *Müller (2008)*

### Clasificación de los antígenos por su origen.

#### Exógenos:

Son los que vienen de afuera. Puede 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.

### **Endógenos:**

Son aquellos antígenos que se encuentran dentro de los individuos; estos se subdividen a su vez en:

- **Xenógeno.-** Dentro de este grupo encontramos a los xenoantígenos o heteroantígenos, que son aquellos que se encuentran en diferentes especies animales, incluyendo al hombre. Ejemplo; antígeno de Forssman y antígenos tisulares, fiebre reumática que ataca articulaciones y provoca daños severos en el corazón.
- **Autólogo.-** En este encontramos al tipo autoantígeno, que son antígenos específicos de cada quien y de cada órgano, por ejemplo; antígenos tiroideos de una persona, no van a ser los mismo que en otra.
- **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, por ejemplo; antígenos de los grupos sanguíneos; así el antígeno A y el antígeno B son aloantígeno.

**Los antígenos se subdividen en 3 tipos principales: Tolerógenos, Inmunógenos y Haptenos.**

**Inmunógenos.-** Capaces de inducir por sí solos respuesta inmune y convertirse en diana de dicha respuesta. Exposiciones secundarias al inmunógeno conducen a respuestas más enérgicas y rápidas (respuestas secundarias o de memoria). La mayor parte de las sustancias que pueden producir respuesta inmune son inmunógenos.

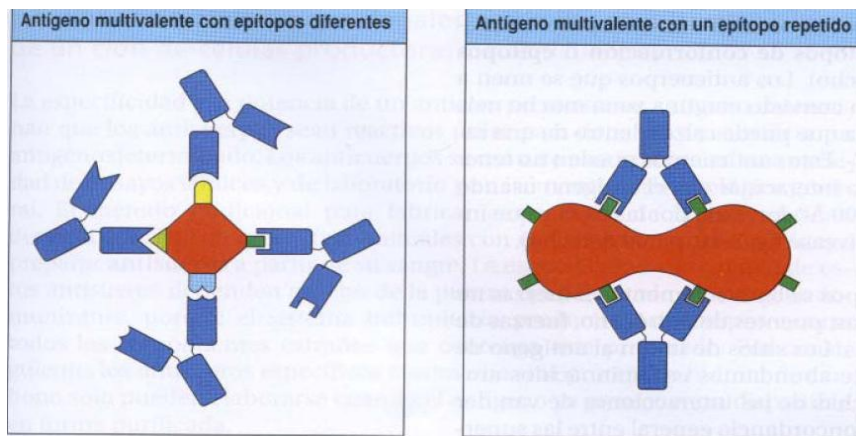
**Haptenos.-** No son capaces por sí solos de inducir la respuesta inmune.

Al unirse a un inmunógeno mayor (proteína), se puede generar respuestas tanto frente al inmunógeno como frente al hapteno.

Exposiciones repetidas al complejo inmunógeno-hapteno conducen a respuestas enérgicas y rápidas (secundarias).

**Tolerógenos.-** Capaces de inducir por sí solos respuesta inmune, pero sucesivas exposiciones al antígeno van provocando respuestas secundarias de cada vez menor intensidad. Ejemplo; los alimentos que ingerimos.

**Figura N°- 2.11: Antígenos Multivalentes.**



Fuente: (<http://quizlet.com/16512377/antibody-structure-and-function-flash-cards/>)

### **Antígenos Timo-dependientes y Timo-independientes**

La respuesta a la mayor parte de los antígenos depende de que tanto las células B como las T reconozcan aquellos. Este tipo de antígenos se denominan T-dependientes. Existe, en cambio, un pequeño número de antígenos capaces de activar las células B sin el auxilio de las células T, designados como T-independientes. Los antígenos T-independientes comparten diversas propiedades (son homopolímeros; moléculas grandes con determinantes antigénicos repetidos), muchos poseen la capacidad (a concentraciones elevadas) de activar clonas de células B específicas de otros antígenos (activación policlonal), sin embargo, a bajas concentraciones solamente activan sus clones B específicos.

Las respuestas primarias de anticuerpos in vitro frente a los antígenos T-independientes son generalmente más bajas que las que ocurren frente a los antígenos T-dependientes y alcanzan su pico más tarde. La respuesta secundaria a los antígenos T-independientes se asemeja a la primaria; es más débil y se halla casi enteramente limitada a la producción de IgM. En cambio la respuesta secundaria de IgG a los antígenos T-dependientes es mucho más potente y aparece antes. La inducción de memoria es así mismo escasa.

### **Antígenos T-dependientes**

- La estimulación de los linfocitos B depende de la activación de los linfocitos Th y su coestimulación.
- De naturaleza proteica.
- Presentan en su molécula pocas copias de muchos epítipo diferentes. La coestimulación por LTh induce cambio de isotipo en las Inmunoglobulinas y memoria inmunológica. Inducen respuestas inmunes secundarias.

### **Antígenos T-independientes**

- Estimulan directamente a los LB.
- Son polímeros que presentan los mismos epítipo repetitivos. Generalmente son más resistentes a la degradación.
- Estimulan muy débilmente a los linfocitos T.
- La respuesta primaria más débil que la producida por los antígenos T-dependientes, y alcanza antes su nivel máximo.
- No producen cambio de isotipo de inmunoglobulina
- No inducen memoria inmunológica ni respuesta inmune secundaria

- Los T-independientes de clase 1 (TI-1) inducen a altas concentraciones una activación policlonal de LB maduros e inmaduros (mitógenos policlonales de LB), independientemente de su especificidad.
- Los T-independientes de clase 2 (TI-2) inducen una respuesta específica por entrecruzamiento de BCR por su unión con epítomos repetidos y activan LB maduros. Respuesta monoclonal. *Romero (2007)*

### **2.2.8 Anticuerpos**

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

Cada individuo sintetiza una gran variedad de anticuerpos diferentes que reconoce una variedad ilimitada de antígenos que permiten la eliminación de los patógenos y sus moléculas tóxicas. Además son la principal herramienta con la que cuenta el sistema inmunitario para defenderse y neutralizar la acción de algún elemento extraño que ingresa en él, como puede ser el caso de una bacteria, un parásito o cualquier virus.

Si bien por supuesto puede haber variaciones, el anticuerpo típico está formado por unidades estructurales básicas, ostentando cada una de estas de dos cadenas pesadas y dos ligeras más pequeñas.

Asimismo, los anticuerpos también despliegan y tiene una importante participación en la medicina como el diagnóstico de las enfermedades, ya que a través de una prueba conocida como prueba serológica, los

profesionales médicos pueden determinar si hay anticuerpos presentes y si por el contrario, luego del test se comprueba que los mismos no están, entonces, ahí sí se podrá confirmar que la persona no se encuentra infectada.

En tanto, la elevación en el número de las distintas clases de anticuerpos permitirá que se determine un diagnóstico sumamente preciso de una afección, que capaz por la similitud de síntomas se la confunde con otras, cuando en realidad se trata de una concreta enfermedad.

También la medicina suele utilizar a los anticuerpos como una eficaz terapia contra algunas enfermedades como la esclerosis múltiple, artritis reumatoide, psoriasis y algunas modalidades de cáncer.

Por otro lado, la ciencia también suele recurrir a estas glucoproteínas para la realización de algunas de sus investigaciones. Las más comunes suelen ser aquellas en las que se pretende localizar e identificar aquellas proteínas internas y externas de las células.

### **Estructura de los anticuerpos:**

Los anticuerpos están formados por cuatro cadenas polipeptídicas, unidas mediante puentes disulfuro y se clasifican en cadenas pesadas y ligeras de acuerdo a la masa molecular que están apareadas de tal modo que la molécula consta de dos mitades cada una de las cuales está constituida por una cadena larga y otra corta, adoptando el conjunto la forma de Y.

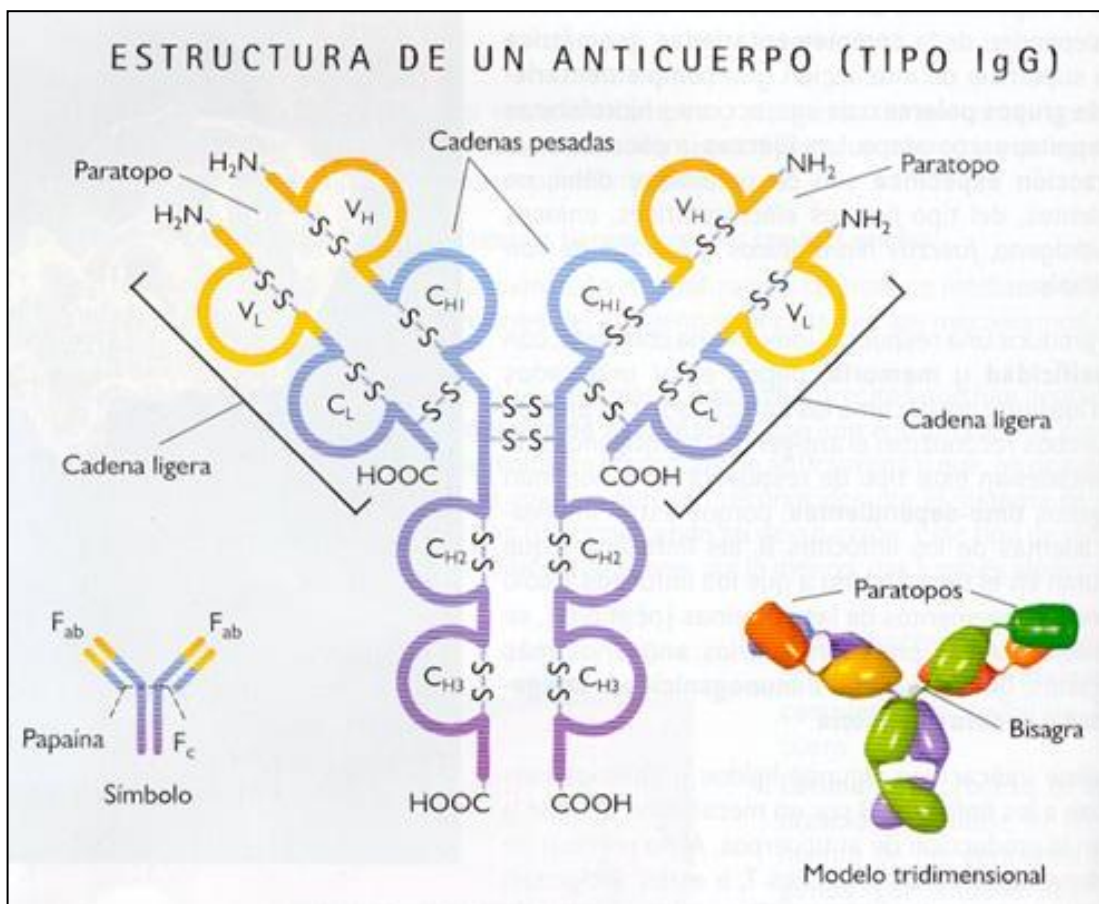
La unión entre las cadenas se establece por puentes disulfuro (-S-S-) Esta disposición permite distinguir en las inmunoglobulinas tres fragmentos moleculares, la denominada subunidad Fc (pie de la Y) y las denominadas



subunidades Fab (brazos de la Y). Los aminoácidos que forman los extremos de cada fragmento Fab, tanto de las cadenas pesadas (H) como de las ligeras (L), son muy variables ( $V_H$  y  $V_L$ ) mientras que en el resto son constantes sea cual fuere la inmunoglobulina a la que pertenecen ( $C_H$  y  $C_L$ ).

Las partes variables tanto de las cadenas L como de las H son las que permiten el acoplamiento al antígeno y definen la especificidad de la inmunoglobulina, formando el llamado centro activo de la misma o paratopo, que se une con el determinante antigénico o epítopo.

Figura N°- 2.12: Estructura de los anticuerpos.



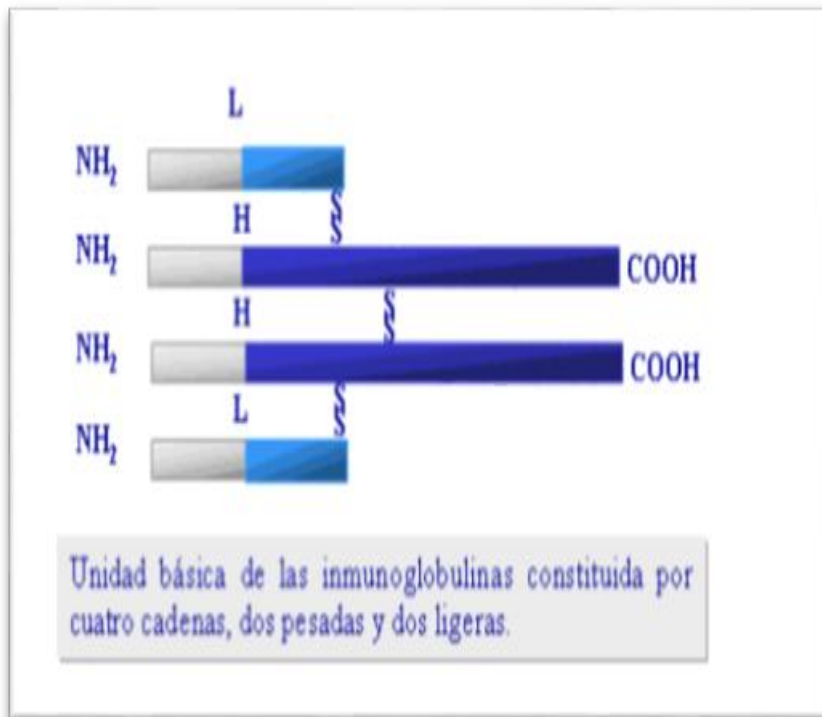
Fuente: (<http://www.biologiasur.org/apuntes/inmunologia/respuesta-humoral/concepto.htm>)

## Unidad estructural básica

Cada unidad está compuesta por cuatro cadenas polipeptídicas unidas entre sí por puentes disulfuro y otras uniones de tipo no covalente.

Para su estudio se han empleado diferentes procedimientos. Por ejemplo, tras la rotura de los puentes disulfuro por sustancias de carácter reductor como el mercaptoetanol, se individualizan las cuatro cadenas polipeptídicas y éstos atendiendo a su tamaño, son de dos tipos; de bajo peso molecular (aproximadamente 22 KD) y de alto peso molecular (50-70 KD, dependiendo del tipo de Inmunoglobulina). Los polipéptidos de bajo peso molecular reciben el nombre de cadenas ligeras o cadenas L (Light) y las de alto peso molecular, cadenas pesadas o cadenas H (Heavy).

Figura N°- 2.13: Estructura básica de inmunoglobulinas.

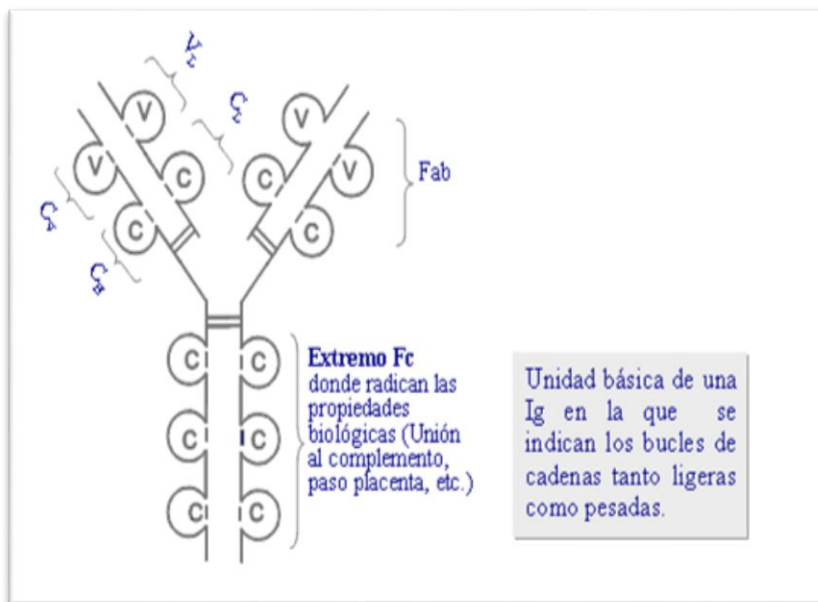


Fuente: (<http://www.uco.es/grupos/inmunologia-molecular/inmunologia/tema03/figura03.htm>)

Dos cadenas ligeras y dos cadenas pesadas se agrupan de tal manera que existe una proximidad espacial entre los cuatro extremos amínicos de las cadenas ligeras y pesadas por una parte y entre los dos extremos carboxílicos de las cadenas pesadas por otra. Esta estructura básica de las inmunoglobulinas puede ser fraccionada mediante la utilización de enzimas (papaína, pepsina, etc.), como realizó Porter en 1959, obteniéndose diferentes tipos de fragmentos.

El tratamiento con papaína produce la ruptura específica de las cadenas H, en el espacio comprendido entre el puente disulfuro que las une entre sí y los que las unen a las cadenas ligeras. Se obtienen tres fragmentos; uno denominado Fc, que determina la actividad biológica que contiene el alotipo y determina la clase y subclase de cadena pesada y dos denominados cada uno de ellos Fab, que contienen el idiotipo y es por donde la molécula se une al antígeno. (Reguerio, López, González y Martínez (2012))

Figura N°- 2.14: Inmunoglobulina de cadenas ligeras y pesadas.



Fuente: (<http://es.slideshare.net/aLeeLuyaa/inmunoglobulinas-9623287>)

### **Cadenas Ligeras**

Hay dos tipos de cadenas ligeras estructuralmente diferentes que se conocen como cadenas ligeras tipo kappa ( $\kappa$ ) y cadenas ligeras tipo lambda ( $\lambda$ ). La familia de genes que codifica para la cadena ligera  $\kappa$  se localiza en el cromosoma 2 y los loci de los genes homólogos que codifican para la cadena  $\lambda$ , en el cromosoma 22. En cada molécula de inmunoglobulina las dos cadenas ligeras son del mismo tipo,  $\kappa$  o bien  $\lambda$ , pero nunca existe una de cada tipo en la misma inmunoglobulina. Las cadenas ligeras están formadas por unos 200 aminoácidos con la particularidad de que existen dos puentes disulfuro que unen grupos de unos cincuenta aminoácidos. Concretamente la  $IgG_1$  posee 214 aminoácidos y su estructura secundaria y terciaria están determinadas por dos puentes disulfuro intracatenarios que unen los aminoácidos 23 con el 88 y 134 con el 193. A su vez, estas cadenas ligeras tienen otro puente disulfuro intercatenario, por el cual cada una de ellas se une a una cadena pesada para constituir la unidad básica de las inmunoglobulinas. Este puente se encuentra en el último aminoácido (214) de la parte carboxílica para el tipo  $\kappa$  y en el penúltimo para el tipo  $\lambda$ .

### **Cadenas pesadas.**

Estas cadenas poseen unos cuatrocientos aminoácidos estableciéndose entre algunos de ellos puentes disulfuro (intracatenarios) que asocian unos 60 aminoácidos y que condicionan la estructura secundaria del polipéptido. Por ejemplo, las cadenas pesadas de la  $IgG_1$  poseen 440 aminoácidos y los puentes disulfuro unen el aminoácido 22 con el 96, el 144 con el 200, el 261 con el 321 y el 367 con el 425. Estas dos cadenas pesadas están unidas la una a la otra por puentes disulfuro intercatenarios, ya indicados anteriormente y que pueden ser de uno a cinco dependiendo del tipo de inmunoglobulina.

En estas cadenas pesadas y a nivel de los puentes disulfuro intercatenarios, hay una zona de unos 15 aminoácidos de gran flexibilidad debido a su estructura y constituye lo que se denomina zona bisagra por donde se deforma

la molécula de inmunoglobulina cuando se produce la unión con el antígeno, facilitándose así su acoplamiento con éste.

Los loci de los genes que codifican para la cadena pesada se localizan en el brazo largo del cromosoma 14.

Tabla. 3. Tipos de cadenas pesadas.

TABLA Tipos de cadenas pesadas		
Tipos	PM	Isiotipo
g	50.000	IgG
m	70.000	IgM
a	55.000	IgA
d	52.000	IgD
e	70.000	IgE

Fuente: (<http://www.vi.cl/foro/topic/5698-capitulos-de-inmunologia-apuntes/page-3>)

### Parte variable y constante de las cadenas ligeras y pesadas.

Estructuralmente las cadenas ligeras poseen dos partes; una corresponde al extremo carboxílico que diferencia las cadenas ligeras en dos tipos k y l, y constituye la parte constante de las cadenas ligeras ( $C_L$ ).

La otra corresponde al extremo amínico que es muy variable y constituye la parte variable de las cadenas ligeras ( $V_L$ ) y corresponde a la zona de interacción con el antígeno. Las partes constante y variable son prácticamente de igual tamaño en las cadenas ligeras.

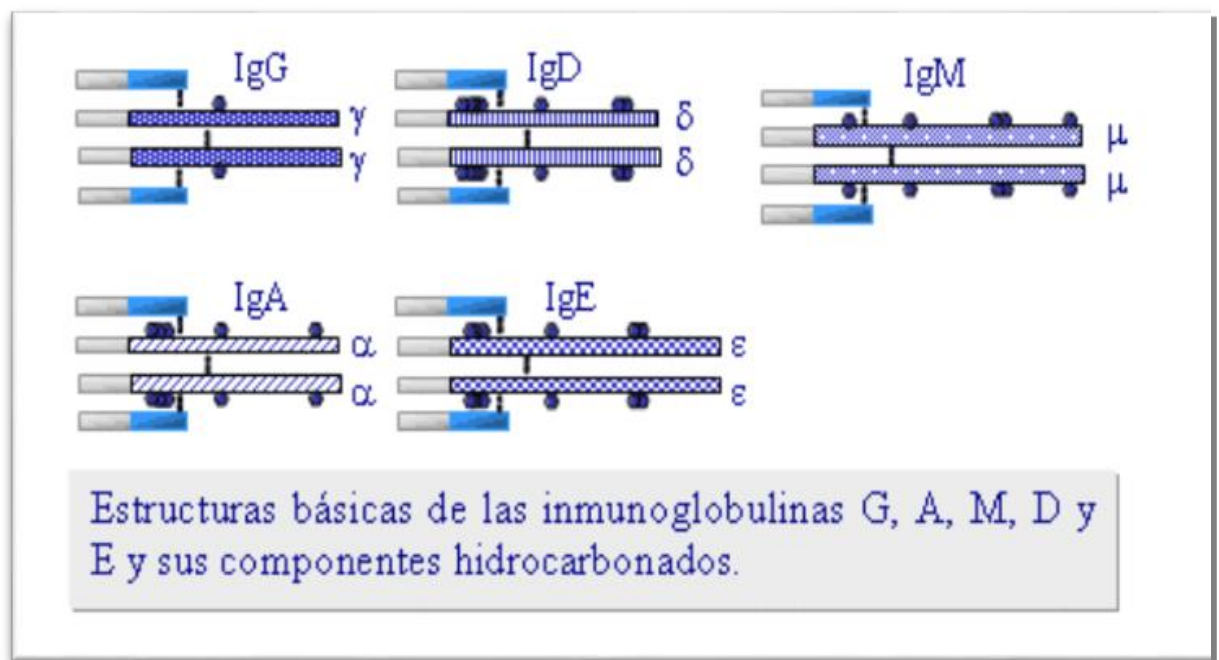
También las cadenas pesadas poseen una parte variable y otra constante. Aproximadamente el tercio del extremo amínico de estas cadenas se caracteriza por ser estructuralmente muy variable, por lo que se conoce como parte variable de las cadenas pesadas ( $V_H$ ).

La estructura de este fragmento al igual que en las cadenas ligeras depende del tipo de antígeno que reconoce, dado que este extremo también participa en la unión de la inmunoglobulina con el antígeno.

Por el contrario, aproximadamente los dos tercios del extremo carboxílico de todas las cadenas pesadas de un mismo tipo de inmunoglobulinas poseen una estructura idéntica. De ahí que esta parte de las cadenas pesadas se conozca como parte constante de las cadenas pesadas ( $C_H$ ).

Esta parte constante es diferente según la clase de inmunoglobulina que consideremos, determinando la existencia de cinco tipos de cadenas pesadas: g, a, m, d y e que definen a su vez las cinco clases de inmunoglobulinas: IgG, IgA, IgM, IgD e IgE respectivamente.

Figura N°- 2.15: Estructuras básicas de inmunoglobulinas G,A,M,D y E.



Fuente: (<http://es.slideshare.net/nanotoka/inmunoglobulinas-m-a-d-e-g>)

### Características de los distintos tipos de inmunoglobulinas

Debido a esta distinta estructura las cadenas pesadas van a presentar distintas propiedades biológicas, tales como la capacidad de unirse entre sí, fijar complemento, fijar la pieza de secreción y unirse a macrófagos, neutrófilos y células NK.

**Tabla 4. Características bioquímicas de inmunoglobulinas.**

TABLA					
Algunas características bioquímicas de las inmunoglobulinas					
Clase	PM	Coefficiente* sedimentación	Velocidad síntesis**	Vida media (días)	(%) Contenido carbohidratos
IgG	150.000	6,5	28	30	2,5
IgA	160.000	7,7	10	8	10
IgM	900.000	19	7	10	11
IgD	180.000	7	0,016	0,4	10
IgE	280.000	8	0,0005	---	10

\*(S), Unidad svedberg    \*\* (mg/Kg/día)

Fuente: (<http://www.vi.cl/foro/topic/5698-capitulos-de-inmunologa-apuntes/page-3>)

**Tabla 5. Propiedades de inmunoglobulinas.**

TABLA							
Propiedades de las inmunoglobulinas							
Clase	Fija C' cia	Transferen- cia placenta	Presencia LCR	Sensibilización cutánea	Secreción mucosa	Síntesis feto	Opsoni- zación
IgG	+	+	+	+	-	-	+
IgA	-	-	+	-	+	-	-
IgM	+	-	-	-	-	+	-
IgD	-	-	-	-	-	-	-
IgE	-	-	-	+	-	-	-

Fuente:( <http://www.vi.cl/foro/topic/5698-c apitulos-de-inmunologa-apuntes/page-3>)

## **Isotipos**

Si inmunizamos un animal de una especie con inmunoglobulinas procedentes de una especie distinta, la mayoría de los anticuerpos generados (antisuero heterólogo) irán dirigidos contra la región constante de la inmunoglobulina que hayamos inyectado, permitiendo definir lo que llamamos el isotipo de una inmunoglobulina determinada. Los genes que codifican para las distintas variantes isotípicas están presentes en todos los individuos sanos, es decir todos los individuos sanos poseen los genes  $g_1$ ,  $g_2$ ,  $g_3$ ,  $g_4$ ,  $m$ ,  $a_1$ ,  $a_2$ ,  $d$ ,  $e$ ,  $k$  y  $l$ ; que codifican respectivamente para las regiones constantes G1, G2, G3, G4, M, A1, A2, D y E de las cadenas pesadas y para las regiones kappa y lambda de las cadenas ligeras.

Existen cinco isotipos de cadena pesada (M, G, A, D y E) y dos de cadena ligera (k y l). Así diremos que el isotipo de una determinada inmunoglobulina es  $G_1$  o que esa inmunoglobulina es de la clase G y subclase 1, que a su vez puede tener unas cadenas ligeras del isotipo kappa o lambda.

### **Dominios moleculares en las cadenas ligeras y pesadas.**

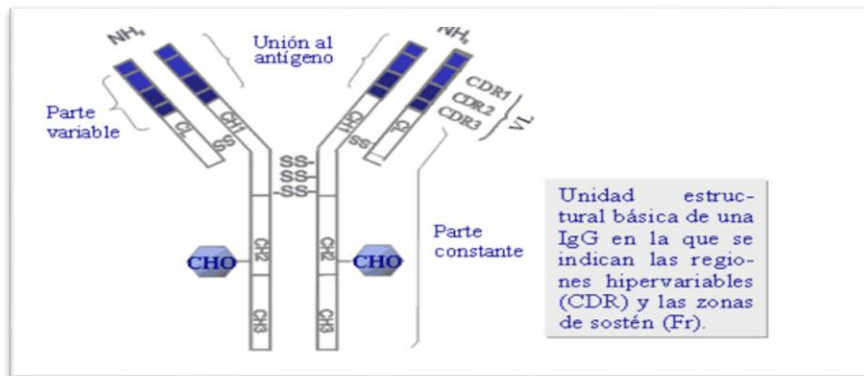
Tanto las cadenas pesadas como las ligeras poseen grupos de aminoácidos unidos por puentes disulfuro intracatenarios. Estos segmentos repetidos en las cadenas L y H se conocen como dominios. Los dominios de la parte constante de las cadenas pesadas presentan una gran homología secuencial no sólo entre ellos sino también con la región constante de la cadena L. De forma similar, los únicos segmentos variables en las cadenas L y H presentan cierta homología entre ellos y en menor grado a los de la región constante.

La cadena L tiene dos dominios, uno corresponde a la región variable ( $V_L$ ) y otro a la constante ( $C_L$ ). La cadena H tiene un dominio en la región variable ( $V_H$ ) y tres o cuatro en la constante dependiendo de la clase de inmunoglobulina que consideremos (tres en la IgG, IgA e IgD y cuatro en las



IgM e IgE). Estos dominios de la región C se denominan C<sub>H1</sub>, C<sub>H2</sub>, C<sub>H3</sub> y C<sub>H4</sub> cuando aparece este último. Los dominios V son los responsables de la unión con el antígeno y los dominios C con excepción del C<sub>H1</sub>, constituyen el fragmento Fc que como ya se ha indicado, determina las propiedades biológicas de las inmunoglobulinas. Concretamente es por el dominio C<sub>H2</sub> por donde se produce la unión a las proteínas del complemento y se establece el enlace con la cadena glicosilada que completa la molécula glicoproteica de las inmunoglobulinas. Es entre los dominios C<sub>H1</sub> y C<sub>H2</sub> donde se establece la zona bisagra.

Figura N°- 2.16: Regiones hipervariables de las Inmunoglobulinas G.



Fuente: (<https://www.google.com.ec/search?hl=es&biw=1366&bih=677&noj=1&site=img>)

### Regiones hipervariables

Las zonas variables tanto de la cadena L como H poseen a su vez unas regiones en donde se concentra fundamentalmente la variabilidad. Son tres pequeños segmentos que constituyen las denominadas regiones o segmentos hipervariables o región determinante de complementariedad CDR (Complementarity Determining Region), pues determinan la forma del centro activo que permite el reconocimiento y unión al antígeno. Cada una de estas regiones hipervariables se componen de 17 a 20 aminoácidos y cambios en muy pocos aminoácidos de estas zonas suponen una enorme diversidad de posibilidades de unión al antígeno sin variar el resto de la molécula. El resto

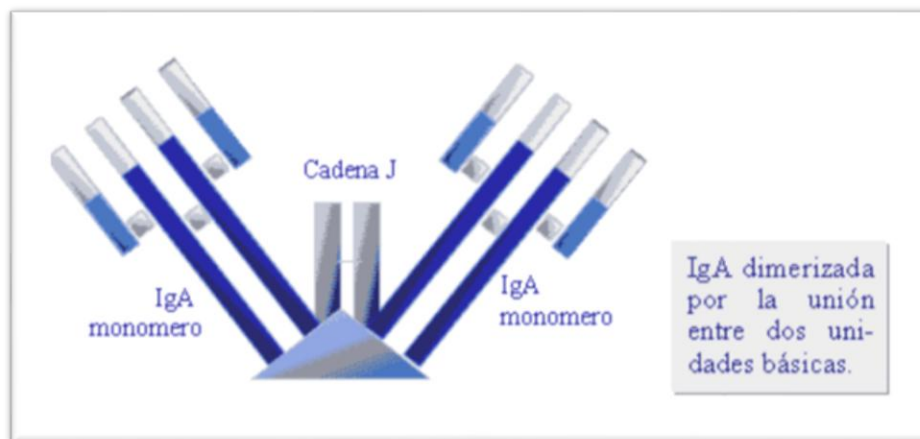
de la parte variable es relativamente constante de modo que sustituciones en los residuos que la constituyen no afectan la especificidad de combinación; constituye un “sostén de trabajo” pues su misión es presentar adecuadamente en el espacio las regiones hipervariables al antígeno por lo que los residuos que componen esta zona se denominan residuos FW (Framework).

### **Moléculas adicionales a la unidad estructural básica.**

En las inmunoglobulinas aparecen, además de las cuatro cadenas polipeptídicas básicas, un componente glucídico (que representa el 2-14 % del peso total de la molécula) y en algunas clases de inmunoglobulinas, glicoproteínas adicionales conocidas como cadena J y pieza de secreción.

La cadena J es una glicoproteína con un 12 % de azúcares y un peso molecular de 15 kD que une mediante puentes disulfuro los extremos Fc en la IgA e IgM. La pieza de secreción es una glicoproteína de 58 kD de peso molecular que sintetizan las células epiteliales de las mucosas y glándulas exocrinas.

**FiguraN°- 2.17: Inmunoglobulina A dimerizada.**



Fuente:( <https://www.google.com.ec/search?hl=es&biw=1366&bih=677&noj=1&site=imghp&tbn>)

### **Subclases de Inmunoglobulinas.**

Se sabe que no todas las Inmunoglobulinas de una misma clase tienen idéntica estructura, sino que dentro de las clases se pueden establecer

subclases considerando la secuencia de aminoácidos de la región constante de las cadenas H y el diferente número y situación de los puentes disulfuro intercatenarios establecidos entre las cadenas pesadas. Así la IgG humana se divide en cuatro subclases (IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub> e IgG<sub>4</sub>) y la IgA e IgM en dos (IgA<sub>1</sub> e IgA<sub>2</sub>; IgM<sub>1</sub> e IgM<sub>2</sub>) respectivamente.

Las regiones constantes de las cadenas pesadas de estas diferentes clases y subclases de inmunoglobulinas se conocen como veremos en el apartado siguiente con el nombre de variantes isotípicas y son las mismas en todos los individuos normales de la misma especie.

**Tabla 6. Propiedades biológicas de las subclases de IgG.**

Tabla Propiedades biológicas de las subclases de IgG				
Características	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
Fijación de complemento	++++	++	++++	+/-
Anafilaxis cutánea	+	-	+	-
Unión a receptores Fc de polimofornuclares	+	+	+	+
monocitos	+	-	+	-
Transferencia placentaria	+	+	+	+

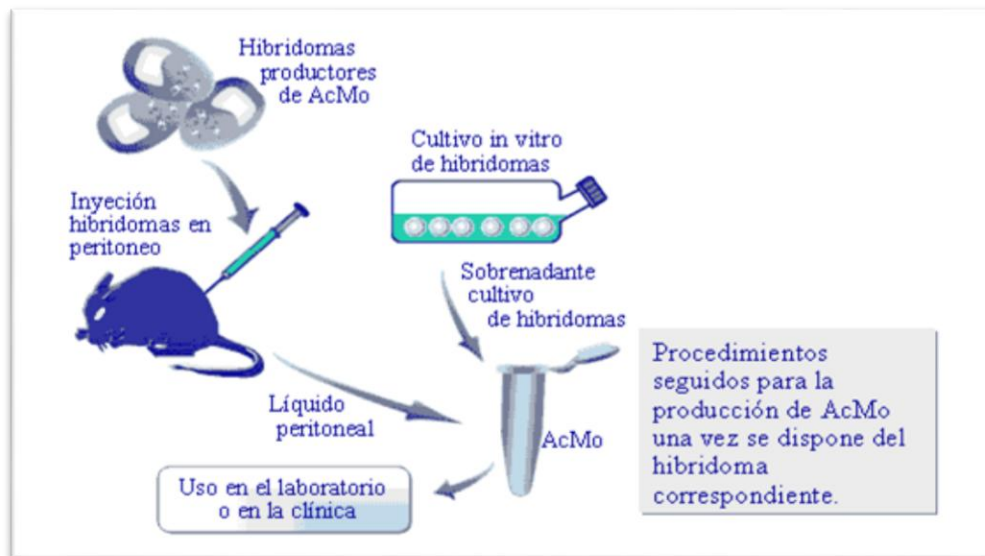
Fuente:(<http://www.vi.cl/foro/topic/5698-capitulos-de-inmunologa-apuntes/page-4>)

### **Alotipos**

Las inmunoglobulinas como proteínas que son, pueden actuar como antígenos. Esta propiedad se ha aprovechado para generar anticuerpos contra

ellas, que posteriormente han sido utilizados como instrumentos para analizar su estructura y función. Mediante el uso de los anticuerpos generados contra las inmunoglobulinas se ha podido detectar la existencia de variaciones en las mismas. Si inmunizamos un animal con inmunoglobulinas de otro animal de la misma especie obtendremos antisueros homólogos. Estos antisueros homólogos pueden ir dirigidos contra las regiones constantes de las inmunoglobulinas, solo contra aquellas zonas que sean distintas entre ambos animales. Estas diferencias reflejan variaciones mínimas, a veces de un solo aminoácido debidas a diferencias en la secuencia de ADN de los genes que codifican para las inmunoglobulinas.

Figura N°- 2.18: Antisueros homólogos.



Fuente: (<http://www.vi.cl/foro/topic/5698-capitulos-de-inmunologia-apuntes/page-4>)

Los genes que codifican para las inmunoglobulinas se heredan en forma de alelos mendelianos, por lo que a cada uno de este tipo de variante se le denomina variante alélica y al conjunto de variantes alélicas se le denomina alotipo. Los determinantes alotípicos o simplemente alotipos se sitúan como

hemos dicho en la región constante de las cadenas pesadas y ligeras. En el hombre se han descrito tres tipos de alotipos:

- Gm en las cadenas g de las IgG.
- Am en las cadenas a de las IgA.

Km en las cadenas ligeras k que dan lugar a tres alotipos: Km (1'2), Km (1) y Km (3), cuyas diferencias estructurales se recogen la tabla.

**Tabla 7. Diferencias en secuencia de aminoácidos en la cadena ligera kappa y alotipos km.**

TABLA		
Diferencias en secuencia de aminoácidos en la cadena ligera kappa y alotipos km		
Alotipo	Posición del aminoácido	
	153	191
Km (1,2)	Alanina	Leucina
Km (3)	Alanina	Valina
Km (1)	Valina	Leucina

Fuente:( <http://www.vi.cl/foro/topic/5698-capitulos-de-inmunologia-apuntes/page-4>)

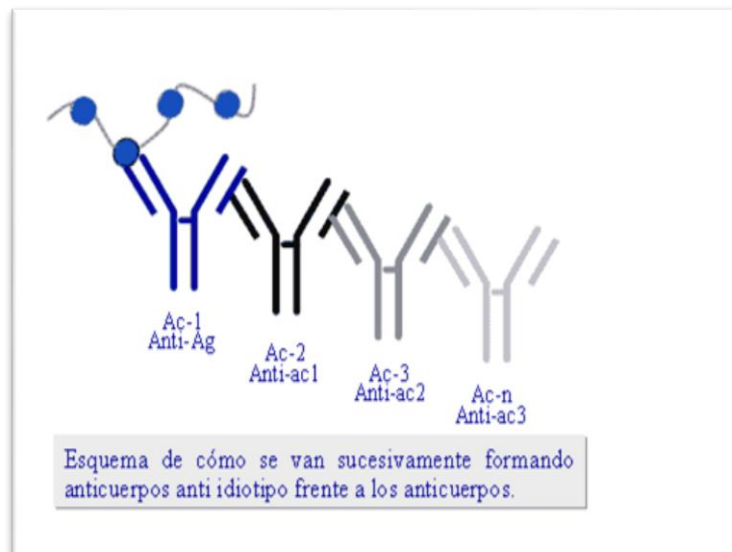
### **Idiotipos**

Los antisueros homólogos que referíamos anteriormente que se producen al inmunizar animales con inmunoglobulinas de otro animal de la misma especie, también pueden ir dirigidos contra las regiones hipervariables de las cadenas H y/o L de las inmunoglobulinas.

Todas las inmunoglobulinas que poseen los mismos determinantes antigénicos en sus regiones hipervariables se dice que pertenecen al mismo

idiotipo o que poseen los mismos determinantes idiotípicos. Los determinantes idiotípicos son exclusivos para las moléculas producidas por un clon determinado de células productoras de anticuerpos. Todos los animales tienen una representación de todas las regiones hipervariables posibles generadas por recombinación genética. Estas condiciones normales, no dan lugar a una masiva producción de anticuerpos al encontrarse cada una en cantidades muy pequeñas, cuando experimentalmente inyectamos una cantidad suficiente de inmunoglobulinas de una especificidad determinada se desarrollara una respuesta de anticuerpos contra el idiotipo de esa inmunoglobulina en particular.

**Figura N°- 2.19: Esquema de formación de anticuerpos anti-idiotipo.**



Fuente:( <http://www.vi.cl/foro/topic/5698-capitulos-de-inmunologa-apuntes/page-4>)

Los idiotipos parecen tener importancia fisiológica en la regulación del sistema inmune. Según la teoría de la red de Jerne, frente a los idiotipos se formarían anticuerpos que al unirse a los mismos formarían un entramado (“red”) de anticuerpos unidos a otros anticuerpos que tendrían como acción final la regulación del proceso de síntesis de nuevas inmunoglobulinas.

Como decíamos anteriormente, cada uno de los idiotipos se encuentra representado en tan pequeña cantidad que pasa desapercibido para el sistema inmune, sin embargo, cuando un determinado clon de células B reconoce su antígeno específico, prolifera, se diferencia a célula plasmática y produce una gran cantidad de inmunoglobulinas de una misma especificidad, sus determinantes idiotípicos pasaran a encontrarse en mucha mayor cantidad y ahora sí darán lugar a una respuesta de anticuerpos contra ellos.

La unión de los anticuerpos anti-idiotipo al idiotipo que los originó podrá dar lugar al bloqueo de las inmunoglobulinas solubles que compartan ese idiotipo o unirse a las inmunoglobulinas de membrana presentes en los linfocitos B de la misma especificidad o incluso en las regiones hipervariables del receptor para el antígeno de la célula T que reconocen ese mismo antígeno, con efectos en cada uno de los casos inhibidores o estimuladores.

Los idiotipos se encontraron mediante estudios serológicos al observarse que cuando en un conejo se inyectaban anticuerpos anti salmonella de otro conejo del mismo alotipo, producían anticuerpos que reaccionaban con el anticuerpo inyectado, incluso aunque los dos conejos fueran genéticamente idénticos.

Estos anticuerpos anti-idiotipo en la mayoría de los casos están dirigidos contra la estructura exclusiva de la porción fijadora de antígeno y por tanto solo reconocen a inmunoglobulinas de la misma especificidad, sin embargo en algunos casos los anticuerpos anti-idiotipo pueden estar dirigidos contra zonas de la región hipervariable distintas de la porción fijadora del antígeno y en este caso podrán unirse a inmunoglobulinas de varias especificidades distintas regulando la respuesta inmune frente a varios antígenos.

### **Distribución de las inmunoglobulinas.**

Las inmunoglobulinas se encuentran distribuidas en todos los fluidos orgánicos de la economía de los vertebrados y en las membranas de los linfocitos B y células plasmáticas. Las cantidades relativas de cada una de las clases de inmunoglobulinas en los diferentes compartimentos del organismo son muy diferentes. En el torrente sanguíneo predomina la Inmunoglobulina G mientras que en las secreciones (saliva, lágrimas, secreción bronquial, así como en el líquido cefalorraquídeo y mucosas) la Inmunoglobulina A es la predominante. Los niveles de inmunoglobulinas séricas fluctúan ampliamente en función de diversos aspectos tales como el estado nutricional, la edad, etc. Los valores normales en suero de un hombre adulto (entre 20 y 40 años) se recogen en la tabla.

**Tabla 8. Concentración de inmunoglobulinas en suero adulto normal.**

TABLA			
Concentración de inmunoglobulinas en suero adulto normal (mg/100ml)			
Ig	Concentración	Nivel inferior	Nivel superior
IgG	1.250	950	1.550
IgM	90	70	110
IgA	210	160	260
IgE	0.0004	0.0002	0.0006
IgD	0.2	0.1	0.3

Fuente:( <http://www.vi.cl/foro/topic/5698-capitulos-de-inmunologa-apuntes/page-4>)

Ontogénicamente se producen múltiples cambios en los niveles de inmunoglobulinas desde el nacimiento hasta los 8 o 10 años, en que estos se estabilizan.



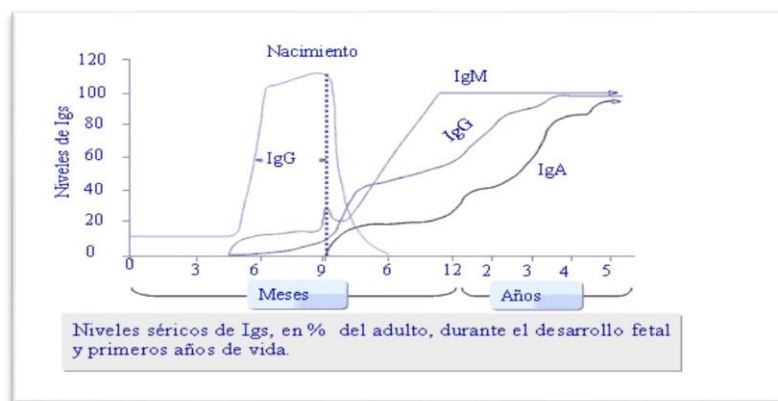
Tabla 9. Valores normales de Inmunoglobulina E.

VALORES DE Ig E	
Valores normales de IgE	
Edad	U/ml
hasta 1 año	1-10
1 a 3 años	10-20
4 a 6 años	20-35
7 a 9 años	35-50
a partir de 10 años	50-100
UI = 23 ng	

Fuente: (<http://www.vi.cl/foro/topic/5698-capitulos-de-inmunologia-apuntes/page-4>)

Los niveles de Inmunoglobulina G son muy altos en la vida fetal y en las primeras semanas de vida extrauterina debido a que esta inmunoglobulina es la única que pasa de la madre al feto a través de la placenta. Durante la lactancia descenden los niveles de Inmunoglobulina G por catabolismo de esas moléculas. También en la edad fetal se sintetizan pequeñas cantidades de Inmunoglobulina M.

Figura N°- 2.20: Niveles séricos de Igs en porcentaje.



Fuente: (<https://www.google.com.ec/search?hl=es&biw=1366&bih=677&noj=1&site=imghp&tbm=isch&sa=1&q=niveles+sericos>)

Cuando las inmunoglobulinas se encuentran insertas en la membrana de los linfocitos (inmunoglobulinas de membrana), actúan como receptores de las

señales de activación antigénicas por su capacidad de reconocimiento del antígeno constituyendo el receptor para el antígeno del linfocito B.

### **Clases de Inmuglobulinas:**

En el ser humano existen cinco clases de anticuerpos, conocidas por el nombre de inmunoglobulinas: G (IgG), A (IgA), M (IgM), D (IgD), E (IgE), que difieren en tamaño, carga eléctrica, composición de aminoácidos y azúcares.

### **La Inmunoglobulina G ( IgG):**

Es la inmunoglobulina más abundante en el suero (70-75%) y es la mayoritaria en el fluido extracelular de los tejidos. Son los únicos que se transportan a través de la placenta. Durante el embarazo confiere inmunidad pasiva al feto y durante sus primeros días de vida les confiere alta protección.

**Figura N°- 2.21: Estructura de inmunoglobulina G.**



Fuente:(<http://recursostic.educacion.es/ciencias/biosfera/web/alumno/2bachillerato/inmune/contenidos11.htm>)

### **La inmunoglobulina A (IgA):**

Representa el 15-20% de las inmunoglobulinas séricas, es la clase predominante de anticuerpo en las secreciones seromucosas del organismo como saliva, lágrimas, calostro, leche y secreciones respiratorias,

gastrointestinales y genitourinarias, etc. Además confiere inmunidad neonatal al estar presente en la leche materna, protege el intestino del recién nacido hasta que empiece a sintetizar sus propios anticuerpos.

Figura N°- 2.22: Estructura de una inmunoglobulina A.



Fuente:(<http://recursostic.educacion.es/ciencias/biosfera/web/alumno/2bachillerato/inmune/contenidos11.htm>)

### La inmunoglobulina M (IgM):

Es la primera inmunoglobulina que se produce en la respuesta inmunitaria y esta exclusivamente en el suero (10%). Es una inmunoglobulina que puede detectar el tipo de ABO sanguíneo de una persona. También es importante en el diagnóstico de fase aguda de distintas infecciones. También se encuentra presente en elasmobranquios, teleósteos, anfibios, reptiles y aves, siendo uno de los anticuerpos más antiguos en la historia evolutiva. Se denomina también macroglobulina (de ahí el nombre de la enfermedad en la que se presenta exceso, macroglobulinemia de Waldenström) debido a su tamaño. Es la inmunoglobulina más grande (950.000 Daltons), aunque el tamaño no se debe exclusivamente al peso molecular real de la molécula sino que ésta presenta la capacidad, a través de su región Fc, de interaccionar con otras cuatro moléculas de Inmunoglobulina M, formando un complejo de alto peso molecular de cinco moléculas de Inmunoglobulina M. Es el primer tipo de inmunoglobulina sintetizada en respuesta a una infección.

Figura N°- 2.23: Estructura de inmunoglobulina M.



Fuente:(<http://recursostic.educacion.es/ciencias/biosfera/web/alumno/2bachillerato/inmune/contenidos11.htm>)

### Inmunoglobulina D (IgD):

Esta inmunoglobulina actúa como un receptor de antígenos cuando está presente en la superficie de ciertos linfocitos B. También se presentan en las células de algunas leucemias linfáticas. En el suero está presente en cantidades insignificantes.

Figura N°- 2.24: Estructura de una inmunoglobulina D.



Fuente:(<http://recursostic.educacion.es/ciencias/biosfera/web/alumno/2bachillerato/inmune/contenidos11.htm>)

### Inmunoglobulina E (IgE):

Es una inmunoglobulina que se encuentra en la membrana de los basófilos y del mastocito. Participa en las reacciones de hipersensibilidad y en la respuesta a parásitos. El reconocimiento de un antígeno por la IgE

desencadena complejas reacciones inmunitarias entre las que pueden destacarse, por ejemplo, la desgranulación de los mastocitos, que liberan sustancias vasoactivas como la histamina así como la intervención de los eosinófilos en la respuesta inflamatoria. *Reguerio et al.(2012).*

Figura N°- 2.25: Estructura de una inmunoglobulina E.



Fuente:(<http://recursostic.educacion.es/ciencias/biosfera/web/alumno/2bachillerato/inmune/contenidos11.htm>)

### 2.2.9 Pruebas antiglobulínicas.

La **prueba de Coombs** (también conocida como **prueba de antiglobulina**) es un examen de sangre que se usa en inmunología y hematología. Este análisis puede detectar la presencia de anticuerpos en suero que reaccionan con antígenos en la superficie de los glóbulos rojos. Hay dos tipos distintos de la prueba de Coombs; el directo y el indirecto. 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.

### 2.2.10 Prueba antiglobulínica directa.

Esta prueba se usa para determinar si hay complemento o anticuerpos ya fijados a glóbulos rojos tomados directamente del paciente. Estas células, alcanzadas de una venopunción, se lavan y se incuban con reactivo de

Coombs. Los anticuerpos del reactivo se unen a Inmunoglobulina G, Inmunoglobulina M, o complemento que está unido a la superficie de los glóbulos rojos. Estos se aglutinan, produciendo grupos de células que indican un resultado positivo.

La prueba es útil para confirmar el diagnóstico de la enfermedad hemolítica del recién nacido, la anemia hemolítica autoinmune, la anemia hemolítica inducida por medicamentos y en la investigación de las reacciones transfusionales.

Los mecanismos por los cuales algunos medicamentos inducen una reacción positiva en la prueba de la antiglobulina directa son variados, entre ellos se cuenta el depósito de complejos inmunes en el cual el complejo medicamento- anticuerpo se deposita inespecíficamente sobre la membrana del hematíe activando el complemento y produciendo hemólisis intra o extravascular.

Un segundo mecanismo asociado a Coombs directo positivo inducido por medicamentos es la absorción del medicamento a la membrana del hematíe, lo cual promueve la formación de anticuerpos contra el medicamento.

Generalmente los anticuerpos formados son de tipo Inmunoglobulina G y el complemento se activa eventualmente. Un tercer mecanismo es el de la autoinmunidad. En la cual por razones no claras el medicamento induce la formación de anticuerpos contra los hematíes. Los anticuerpos son generalmente de la clase Inmunoglobulina G y rara vez se activa el complemento.

Un cuarto mecanismo trata sobre la absorción de proteínas a la membrana del hematíe debido a causas no inmunológicas. Se cree que la absorción de esas proteínas entre las que se cuenta la albúmina, inmunoglobulina y

complemento se debe a que el medicamento produce una modificación en la membrana del hematíe promoviendo su absorción no específica. La prueba de antiglobulina directa es sencilla de realizar y para tener resultados de calidad sólo basta con lavar escrupulosamente los hematíes para remover las inmunoglobulinas y el complemento no unidos a la célula y que pueden interferir en la prueba de igual forma es de vital importancia seguir al pie de la letra las instrucciones del fabricante del reactivo.

### **Principio**

La antiglobulina humana poliespecífica reacciona con las inmunoglobulinas humanas y/o complemento unido a la superficie de las células rojas, resultando una aglutinación de células sensibilizadas adyacentes. En las pruebas de antiglobulina, las células rojas son lavadas completamente para remover inmunoglobulinas no unidas al glóbulo rojo. El lavado es necesario para prevenir la neutralización de la anti-globulinas humana por proteínas no ligadas. La antiglobulina humana poliespecífica anti-inmunoglobulina G-C3d agregada a células lavadas, causará aglutinación si las células están sensibilizadas con inmunoglobulinas o complemento. Las células no sensibilizadas no aglutinarán con la antiglobulina humana.

### **Procedimiento**

- Mezcle bien la muestra de sangre.
- Tome una gota de la sangre anticoagulada y haga una suspensión al 2.5% con solución salina fisiológica.
- Dispense una gota de la suspensión de hematíes antes preparada en un tubo de 10 o 12 x 75 mm.
- Llene el tubo (1 cm por debajo de la boca) con solución salina fisiológica, centrifugue 1-2 minutos a 3.400 R.P.M. y descarte el sobrenadante

completamente. Resuspenda el botón de células suavemente y repita el procedimiento hasta completar 3 o 4 lavados.

- Después del último lavado descarte completamente la solución salina fisiológica e inmediatamente añada 2 gotas del suero antiglobulina.
- Mezcle.
- Centrifugue por 15-30 segundos a 3.400 R.P.M.
- Resuspenda suavemente el botón de células y observe la presencia o ausencia de aglutinación con la ayuda de una lámpara de lectura o contra un fondo blanco bien iluminado.
- Si no observa aglutinación, incube el tubo por 5 - 10 minutos a temperatura de laboratorio y centrifugue para volver a leer. Este procedimiento es adecuado cuando se quiere evidenciar la sensibilización de los hematíes por fracciones del complemento (C3d) puesto que la incubación incrementa la sensibilidad de la reacción. Sin embargo, es conveniente tener en cuenta que cuando se observan reacciones débiles de aglutinación debidas a la actividad anti-Inmunoglobulina G, la incubación y recentrifugación pueden negativizar la reacción, arrojando un falso resultado negativo.
- Si el resultado negativo persiste aliada al tubo una gota de células control de Coombs, mezcle y centrifugue a 3.400 R.P.M. por 15-30 segundos.

Si no observa aglutinación, incube el tubo por 5 - 10 minutos a temperatura de laboratorio y centrifugue para volver a leer. Este procedimiento es adecuado cuando se quiere evidenciar la sensibilización de los hematíes por fracciones del complemento (C3d) puesto que la incubación incrementa la sensibilidad de la reacción.

Sin embargo, es conveniente tener en cuenta que cuando se observan reacciones débiles de aglutinación debidas a la actividad anti-Inmunoglobulina G, la incubación y centrifugación adicional pueden



negativizar la reacción, arrojando un falso resultado negativo. Si el resultado negativo persiste aliada al tubo una gota de células control de Coombs, mezcle y centrifugue por 15-30 segundos a 3.400 R.P.M.

### Interpretación de resultados

La aglutinación de los hematíes por el suero antiglobulina poliespecífico indica que éstos fueron sensibilizados in vivo con anticuerpos no aglutinantes (IgG) y/o con fracciones del complemento (C3d).

Tabla 10. Grado de aglutinación de los hematíes en la prueba de la antiglobulina directa e indirecta.

GRADO DE REACCIÓN	DESCRIPCIÓN
0	No hay aglutinación visible de los hematíes macro y microscópicamente después de agitar suavemente el tubo.
d (w)	La aglutinación de los hematíes después de agitar suavemente el tubo es escasa y a veces dudosa. Al observar al microscopio, se observan eritrocitos que aglutinan mientras que otros no lo hacen.
1+	El botón de hematíes se divide en numerosos pedacitos después de agitar suavemente el tubo. El fondo se observa muy coloreado (rojizo).
2+	El botón de hematíes se divide en varios trozos pequeños después de agitar suavemente el tubo. El fondo se observa coloreado (rojizo).
3+	El botón de hematíes se divide en varios trozos grandes después de agitar suavemente el tubo. El fondo es claro (verde).
4+	El botón de hematíes permanece intacto o se divide en dos o tres trozos después de agitar suavemente el tubo. El fondo es claro (Verde claro si se usa suero antiglobulina coloreado).

Fuente: (<https://www.google.com.ec/search?hl=es&site=img&tbn=isc>)

El resultado será reportado como Coombs directo o prueba de la antiglobulina directa positiva, indicando el grado de aglutinación, el cual va desde débil (d) hasta 4+.

La no aglutinación indica que no hubo sensibilización in vivo de los hematíes o que a pesar de haberla, la sensibilidad de la prueba no es suficiente para detectarla. Es conocido que se necesitan más de 102 moléculas de Inmunoglobulina G sensibilizando el glóbulo rojo para que este pueda ser aglutinado por el suero antiglobulina.

### **Limitaciones del procedimiento**

Las limitaciones del procedimiento están dadas en los términos de falsos negativos y falsos positivos que pueda arrojar la prueba por diferentes causas.

### **Falsos Negativos**

Las reacciones falsas negativas pueden ocurrir cuando se realiza un deficiente lavado de los hematíes a analizar. Un mal lavado deja trazas de inmunoglobulinas y complemento no fijados que pueden inactivar el reactivo de antiglobulina produciendo resultados falsos negativos.

Se ha reportado que un volumen de suero diluido 1: 4000 en salina puede neutralizar un volumen igual del reactivo antiglobulina, para evitar esto, es importante realizar los lavados de las muestras con volúmenes de 3 ml de solución salina fisiológica y descartar completamente la salina entre lavado y lavado. Para descartar completamente la salina del tubo es conveniente dejarla escurrir por unos segundos sobre una compresa limpia y seca. Para asegurar un buen lavado de las células, estas deben ser resuspendidas completamente entre lavado y lavado antes de adicionar la solución salina fisiológica. La resuspensión de las células se debe hacer con movimientos suaves y firmes del tubo, evitando tapar la boca del tubo con el dedo, ya que esto podría contaminar el sistema aparte de significar un peligro de contaminación biológica para el profesional que realiza este procedimiento. Los anticuerpos se eluyen de las células durante la incubación o el lavado y

para evitar que esta situación se manifieste es conveniente realizar la prueba de una forma ininterrumpida. La adición del suero antiglobulina debe hacerse inmediatamente se terminen los lavados de los hematíes y seguido se debe centrifugar y realizar la lectura. El proceso de lavado debe hacerse rápido. No es conveniente dejar los tubos con salina por largos períodos de tiempo ya que esto podría favorecer la elución de los anticuerpos arrojando resultados falsos negativos. Las muestras de sangre que no vayan a ser inmediatamente analizadas deben ser refrigeradas a 2- 8°C para evitar una pérdida de la reactividad. Es preferible realizar la prueba inmediatamente utilizando muestras frescas para obtener resultados confiables.

EL suero antiglobulina debe almacenarse a 2- 8°C cuando no esté en uso. Antes de usar el reactivo de Coombs se aconseja dejarlo alcanzar la temperatura ambiente y controlarlo con células sensibilizadas. Cuando el suero antiglobulina no es añadido al sistema lo cual es poco probable dado que la mayoría de casas comerciales expenden el reactivo coloreado de verde, lo cual evidencia fácilmente si este fue o no agregado a las células.

### **Falsos positivos**

Por su parte las reacciones falsa positivas en la prueba de antiglobulina indirecta ocurren cuando: Los hematíes se han contaminado con agentes microbianos, debido a su inadecuado manejo y almacenamiento. La centrifugación de los tubos es inadecuada (exceso de centrifugación). *Dueñas(2003)*

#### **2.2.11 Prueba antiglobulínica indirecta.**

La prueba de la antiglobulina o prueba de Coombs indirecta (in vitro), permite la detección e identificación de globulinas ligadas inmunológicamente a los hematíes. La adición del reactivo antiglobulina a los mismos ocasionará su

aglutinación. Se detectan anticuerpos específicos de ciertos antígenos que no necesariamente están presentados en los glóbulos rojos del paciente, pero puede estar en glóbulos rojos de otras personas.

Si se mezcla suero tomado de un paciente que contiene estos anticuerpos con glóbulos rojos que sí muestran estos antígenos específicos, los glóbulos rojos se van a cubrir con anticuerpo. Una vez cubiertas, las células se van a aglutinar después de una exposición al reactivo de Coombs.

### **Técnica**

- Prepare una suspensión al 2 - 5 % con la mezcla de hematíes O y en el caso del Coombs cruzado utilice una muestra de la sangre a transfundir para preparar la suspensión.
- En un tubo debidamente rotulado añada dos gotas del suero y dos gotas de la suspensión y mezcle bien.
- Prepare un tubo control rotulado C+ (control positivo) y añada en él dos gotas de la suspensión de hematíes O y dos de suero hemoclasificador anti-D, mezcle bien.
- Incube ambos tubos en un Baño de María a 37°C por 20 minutos.
- Lave tres veces con solución salina escurriendo totalmente el sobrenadante del último lavado.
- Añada dos gotas de suero de Coombs poli específico a cada tubo.
- Centrifugue 1 minuto a 1000 R.P.M.
- Lea desprendiendo suavemente el botón en la lámpara.

### **Interpretación de resultados**

Si en la prueba de Coombs indirecto se observa aglutinación significa que estamos en presencia de anticuerpos irregulares en el suero del receptor por lo que debe proceder al estudio e identificación de él o los anticuerpos adquiridos. *Garibay (2006)*

### **2.2.12 Pruebas de compatibilidad.**

Es una prueba inmunohematológica cuyo principio es la hemaglutinación y su objetivo es evitar la destrucción intravascular de los hematíes en un receptor.

Para requerir una óptima transfusión actualmente se requiere de aceptaciones inmunológicas receptor - donante, ya que la transfusión de sangre o la de sus componentes celulares de un donante a un receptor es una forma de trasplante. Las pruebas de compatibilidad son un conjunto de procedimientos que deben de llevarse a cabo antes de entregar la sangre para una transfusión.

La finalidad es garantizar en lo posible que la sangre del donante no provocará ninguna reacción adversa en el paciente. En el campo de la transfusión sanguínea puede decirse que es una fortuna el hecho de existir una alta correlación entre las pruebas serológicas o de compatibilidad in vitro y la sobrevivencia de los glóbulos rojos transfundidos.

La prueba de compatibilidad es un procedimiento de laboratorio que permite conocer si existe compatibilidad serológica entre la sangre de una persona donante y la de un receptor previo a una transfusión de sanguínea. La prueba de compatibilidad sanguínea es la más importante efectuada en un servicio de transfusión. Es significativo señalar que un error en la prueba de compatibilidad puede conducir a una reacción hemolítica, cuyas consecuencias pueden ser incluso fatales.

El propósito de la Prueba de Compatibilidad es prevenir la transfusión de sangre incompatible. Este procedimiento incluye las Pruebas Cruzadas, que

tienen como función poner de manifiesto la existencia de anticuerpos dirigidos contra antígenos de sistemas menores o secundarios.

**Tabla.11. Compatibilidad sanguínea.**

<b>Tipo de sangre</b>	<b>Puede donar a</b>	<b>Puede recibir de</b>
A+	A+ AB+	O+ O- A+ A-
A-	A+ A- AB+ AB-	O- A-
B+	B+ AB+	O+ O- B+ B-
B-	B+ B- AB+ AB-	O- B-
AB+	AB+	TODOS
AB-	AB+ AB-	AB- O- A- B-
O+	A+ B+ AB+ O+	O+ O-
O-	TODOS	O-

Fuente: (<http://enfermeriaceu.blogspot.com/2010/03/grupos-sanguineos.html>)

Las pruebas cruzadas deben realizarse en diferentes condiciones que favorezcan la reacción antígeno-anticuerpo y la formación de aglutinados celulares, tales pruebas se efectúan rutinariamente en solución salina al 0.85%, en este medio los anticuerpos que aglutinan son principalmente de la clase Inmunoglobulina M. El empleo de albúmina bovina facilita la detección de anticuerpos de la clase Inmunoglobulina G, ya que éstos muy frecuentemente se ven impedidos en su efecto aglutinante por el potencial Z (fuerza de repulsión entre eritrocitos por las cargas eléctrica negativas sobre su membrana). La anti - inmunoglobulina de Coombs se utiliza para poner de manifiesto anticuerpos unidos a la membrana de los eritrocitos que no tienen actividad aglutinante.

La prueba cruzada consiste en poner en contacto el suero del receptor con los glóbulos rojos del donante (Prueba Cruzada Mayor) y suero del donador

con eritrocitos del receptor (Prueba Cruzada Menor). Esta prueba es un requerimiento fundamental porque es la mejor manera de detectar anticuerpos que pueden dañar las células rojas transfundidas y **las pruebas de compatibilidad involucran:**

- Revisión de los registros del paciente.
- Determinación previa del Grupo sanguíneo.
- Presencia de anticuerpos.
- Detalles de transfusiones anteriores.

Esta información debe figurar en la solicitud de sangre y es conveniente consultar los archivos.

- Determinación del grupo ABO/Rh verificar si coinciden.
- Tamizaje de anticuerpos
- Compatibilidad cruzada entre el suero del paciente y glóbulos rojos del donante.

**Procedimiento:**

- Verificar que las muestras de la sangre del paciente coinciden con la solicitud correspondiente.
- Determinar grupo ABO/Rh
- Rotular los tubos para la muestra cruzada de la siguiente forma.
- A la prueba mayor y al autocontrol se le agrega 2 gotas de albumina al 22%
- Incubar a 37°C durante 15-30min.
- Centrifugar y leer, examinar si hay alguna aglutinación.
- La prueba dejarla incubando a temperatura ambiente durante el mismo tiempo de la prueba mayor y el autocontrol.
- Hacer 3 lavados a los tubos, el ultimo lavado decantar y eliminar el exceso de solución Salina

- Agregar 2 gotas de anti Inmunoglobulina G a los 3 tubos.
- Centrifugar y leer.

### **Interpretación**

- Si hay aglutinación es IMCOMPATIBLE.
- Si NO hay aglutinación es COMPATIBLE. *Garibay (2006)*




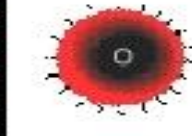


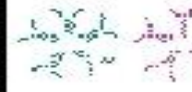


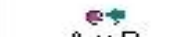
#### **2.2.13 Identificación del receptor.**

La mala identificación del receptor en el momento de la colección de las muestras de sangre que deben acompañar la solicitud de transfusión, o la mala identificación de las muestras de sangre en cuanto a su etiquetado, se constituyen en la principal causa de transfusión de sangre ABO incompatible y por tanto de accidentes transfusionales graves o fatales. Para evitar estos tipos de errores, la persona encargada de tomar las muestras de sangre debe preguntar el nombre completo del paciente y etiquetar los tubos justo antes de proceder a la toma de las muestras. Si el hospital tiene dentro de sus políticas el uso de bandas de identificación en la muñeca del paciente, la información que contiene esta banda debe ser confrontada con la que proporciona el paciente.

Cuando por la condición clínica o la edad del paciente no sea posible interrogarlo sobre sus datos personales, es obligatorio el uso de bandas o brazaletes que permitan una adecuada identificación del paciente y de las muestras de sangre que de él se obtengan. Las muestras de sangre que se obtienen para las pruebas pretransfusionales de compatibilidad deben ser siempre que la condición clínica y la edad del paciente permita una muestra de sangre anticoagulada



Figura N°- 2.26: Sistema ABO.

	GRUPO A	GRUPO B	GRUPO AB	GRUPO O
SANGRE ROJA CELULA				
ANTICUERPOS	 Anti A	 Anti B	Ninguno	 Anti A y Anti B
ANTIGENOS	 A Antigeno	 B Antigeno	 A y B Antigenos	No Antigenos

Fuente: (<http://www.webdelbebe.com/pre-natal/concepcion/incompatibilidad-sanguinea-abo-entre-la-mama-y-el-feto.html>)

El personal responsable del paciente en el momento de la petición de transfusión extraerá, previamente identificado el paciente receptor.

Un tubo sin anticoagulante con 10 centímetros cúbicos de sangre del futuro receptor (mínimo 5 cc.), en pediatría un tubo seco con 5 c.c. de sangre.

En lactantes menores de 3 meses, dos capilares; si es la primera transfusión, sacar un tubo sin anticoagulante a la madre.

Al extraer la muestra colocará al paciente una **pulsera de seguridad** de la transfusión y cortará el extremo distal a la zona de sujeción de la misma (que contiene 10 etiquetas con código numérico y de letras) pegándolo a la hoja de solicitud de transfusión. Además, desprenderá el código de la parte anexa a la sujeción de la pulsera y se lo adherirá al tubo de la muestra, junto a la etiqueta donde figuren claramente los siguientes datos:

- NOMBRE Y APELLIDOS DEL PACIENTE
- NÚMERO DE HISTORIA CLÍNICA

- NOMBRE DE LA PERSONA QUE EXTRAJO LA MUESTRA
- FECHA Y HORA EN QUE SE REALIZÓ LA EXTRACCIÓN
- NÚMERO DE HABITACIÓN Y CAMA DONDE ESTA UBICADO EL PACIENTE.

El paciente mantendrá colocada la pulsera en su muñeca durante la validez de la muestra o hasta que, con motivo de necesitar otra transfusión, sea necesario extraerle otra muestra para la realización de nuevas pruebas pretransfusionales, si han transcurrido 48 horas o más desde la última transfusión de hematíes concentrados (HC). *Henry (2010)*

**Figura N°- 2.27: Identificación del receptor.**



Fuente:([https://www.google.com.ec/search?hl=es&site=imghp&tbn=isch&source=hp&biw=1366&bih=677&q=liss&oq=liss&gs\\_l=img.3..0l10.3465](https://www.google.com.ec/search?hl=es&site=imghp&tbn=isch&source=hp&biw=1366&bih=677&q=liss&oq=liss&gs_l=img.3..0l10.3465))

### **2.2.14 Prueba cruzada mayor.**

#### **Principio**

Consiste en enfrentar el suero del receptor con glóbulos rojos del donante. Esta se estudia en diferentes temperaturas en un medio de reacción adecuado (potenciador). Si en el suero de receptor hubiera un anticuerpo dirigido contra un antígeno sobre los glóbulos rojos del donante, se

observará aglutinación y/o hemolisis. Además se realiza un escrutinio de anticuerpos irregulares en el receptor. Los hematíes y el suero han de ser incubados el tiempo suficiente para que puedan reaccionar incluso los Ac muy poco potentes; por lo que es necesario añadir suero antiglobulina después de la incubación para detectar los Anticuerpos que recubren a los hematíes pero que no llegan a aglutinarlos. La prueba debe comprobarse mediante controles. Para preparar la suspensión de hematíes del donante se utiliza la sangre contenida en los segmentos de la bolsa (macarrones).

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

- Albumina bovina 22 % o LISS
- Suero de Coombs
- Células control de Coombs (sensibilizadas con IgG).
- Tubos de vidrio 12 x 15 mm y gradilla para tubos
- Pipetas Pasteur
- Centrifuga
- Baño María a 37°C
- Lámpara

### **Procedimiento**

#### **Fase I: Salina**

- Preparar una suspensión de glóbulos rojos del donante (paquete globular)
- Marcar 1 tubo de 12 x 75 mm. con el rotulo PC
- Colocar 2 gotas del suero problema
- Colocar una gota de los glóbulos rojos del donante suspendidos
- Mezclar, centrifugar los tubos durante 15 segundos a 3500 R.P.M.
- Observar la presencia de hemolisis y/o aglutinación, hacer la lectura por cruces y anotar los resultados.

## **Fase II: Térmica**

- Agregar 2 gotas de albumina bovina al 22% o LISS al tubo. Mezclar, centrifugar a 3500 R.P.M. durante 15 segundos, leer la hemolisis y/o aglutinación hacer la lectura por cruces y anotar los resultados.
- Incubar en baño maría a 37°C durante 30 minutos con albumina o 15 minutos con LISS.
- Centrifugar, observar hemolisis y/o aglutinación y anotar los resultados.

## **Fase III: Antiglobulínica**

- Lavar 3 veces con solución salina fisiológica al 0,9%
- Se llena el tubo hasta cerca al borde con solución salina 0,9%, se centrifuga durante 1 minuto a 3500 R.P.M. Se decanta todo. Se adiciona 1 o 2 gotas de solución salina, se re suspende el botón, se vuelve a llenar y se repite el paso anterior.
- Agregar 2 gotas de antiglobulina humana y mezclar,
- Centrifugar a 3500 R.P.M. por 15 segundos
- Leer y registrar. Los resultados negativos deben ser comprobados con la célula de control de Coombs.

## **Interpretación**

Si NO hay hemolisis y/o aglutinación: prueba cruzada compatible. La prueba cruzada es compatible si no hay aglutinación, ya que indica que no existen aloanticuerpos eritrocitarios en el suero del receptor. Hay que tener en cuenta que todas las pruebas de la antiglobulina negativas deben ser comprobadas para asegurar que la técnica se ha realizado correctamente. Para ello, se añaden hematíes sensibilizados y lavados (Glóbulos Rojos control) a todos los tubos que contienen resultado negativo. Si los resultados son correctos los hematíes control deben ser aglutinados. En cambio si no se observa aglutinación, la prueba no es válida y debe repetirse.

Si hay hemolisis y/o aglutinación; prueba cruzada incompatible. La aglutinación indica incompatibilidad ya que significa que algún Ac del suero del receptor se ha unido a los hematíes del donante. La valoración se puede hacer con cruces, o bien se puede hacer una prueba cruzada titulada empleando diluciones dobles progresivas. Para diferenciar aloanticuerpos de los autoanticuerpos se debe disponer de un autocontrol, y cuando éste es negativo se sospecha la existencia de aloanticuerpos en una prueba cruzada incompatible. Los anticuerpos se deben identificar antes de que el paciente reciba la transfusión. Si el autocontrol es positivo se sospecha la presencia de autoanticuerpos. Los aloanticuerpos producen reacciones transfusionales más graves que los autoanticuerpos.

### **2.2.15 Prueba cruzada menor**

#### **Principio**

En ella el suero del donante se enfrenta con hematíes del paciente. (Se llama menor porque el plasma del donante sufre una dilución rápida al entrar en el torrente sanguíneo del receptor, lo que hace que los problemas debidos a los anticuerpos transfundidos sean menores en el peor de los casos). La prueba es compatible cuanto detecta anticuerpos en el suero del receptor, particularmente cuando se pretende transfundir sangre total proveniente de un donador con antecedentes propiciadores de aloinmunización. (Embarazos o transfusiones previas).

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

- Albumina bovina 22 % o LISS
- Suero de Coombs
- Células control de Coombs (sensibilizadas con Inmunoglobulina G).
- Tubos de vidrio 12 x 15 mm
- Pipetas Pasteur

- Centrifuga
- Baño María a 37°C
- Gradilla para tubos
- Lámpara
- Lente de Magnificación
- Microscopio

### **Procedimiento:**

#### **Fase I: Salina**

- Preparar una suspensión de glóbulos rojos del donante (paquete globular)
- Marcar 1 tubo de 12 x 75 mm. Con el rotulo PC
- Colocar 2 gotas del suero del donador
- Colocar una gota de los glóbulos rojos suspendidos del receptor al 5%
- Mezclar, centrifugar los tubos durante 15 segundos a 3500 R.P.M.
- Observar la presencia de hemolisis y/o aglutinación, hacer la lectura por cruces y anotar los resultados.

#### **Fase II: Térmica**

- Agregar 2 gotas de albumina bovina al 22% o LISS al tubo. Mezclar, centrifugar durante 15 segundos, leer la hemolisis y/o aglutinación hacer la lectura por cruces y anotar los resultados.
- Incubar en baño maría a 37°C durante 30 minutos con albumina o 15 minutos con LISS.
- Centrifugar, observar hemolisis y/o aglutinación y anotar los resultados.

#### **Fase III: Antiglobulínica**

- Lavar 3 veces con solución salina fisiológica al 0,9%

- Se llena el tubo hasta cerca al borde con solución salina 0,9%, se centrifuga durante 1 minuto a 3500 R.P.M.
- Se decanta todo. Se adiciona 1 o 2 gotas de solución salina, se resuspende el botón, se vuelve a llenar y se repite el paso anterior.
- Agregar 2 gotas de antiglobulina humana y mezclar, centrifugar por 15 segundos a 3500 R.P.M. y leer.
- Los resultados negativos deben ser comprobados con la célula de control de Coombs.

### **Interpretación**

- Si NO hay hemolisis y/o aglutinación: prueba cruzada compatible
- Si Hay hemolisis y/o aglutinación: prueba cruzada incompatible. *Dueñas (2003)*

### **2.2.16 Determinación del antígeno D**

Son Rh positivas aquellas personas que presentan dicha proteína en sus eritrocitos y Rh negativa quienes no presenten la proteína. Un 85% de la población tiene en esa proteína una estructura dominante, que corresponde a una determinada secuencia de aminoácidos que en lenguaje común son denominados habitualmente Rh+. La aglutinación de los hematíes ocurre en dos fases, en la primera de ellas el anticuerpo se une al antígeno correspondiente en la membrana de la célula (fase de sensibilización), posteriormente en la segunda fase se produce la aglutinación de los hematíes sensibilizados. En la mayoría de los casos, cuando el antígeno está bien expresado en las células las dos fases ocurren casi simultáneamente, observándose la aglutinación microscópica en pocos segundos. Cuando el antígeno está débilmente expresado en la célula, la fase de aglutinación no ocurre y para evidencia la reacción antígeno-anticuerpo es necesario recurrir a la antiglobulina humana.

## **Materiales**

- Tubos de 10 ó 12 x 75 mm
- gradilla para tubos.
- Pipetas de transferencia.
- Baño María o incubadora de calor seco a 35-37°C
- Centrífuga serológica.
- Solución salina fisiológica 0.9% (SSF).
- Antisuero comercial anti-D.
- Reactivo control de Rh.

## **Procedimiento**

- Marque dos tubos de 10 o 12 x 75 mm, uno como anti-D y otro como control Rh. Incluya la identificación de la muestra (Nombre o número de registro Rh paciente o donante con el fin de afirmar la pertenencia de la muestra).
- Lave dos a tres veces los hematíes a analizar y realice una suspensión celular al 2-5%.
- Colocar una gota de la suspensión de hematíes en cada una de los tubos marcados anteriormente.
- Añada una gota de antisuero anti-D y una gota de control a los respectivos tubos. Mezcle bien.
- Centrifugue los tubos por 15-30 segundos a 3.400 R.P.M.
- Resuspenda suavemente el botón de células para observar la presencia o ausencia de aglutinación macroscópica contra un fondo blanco bien iluminado.
- Anote los resultados.



- A toda muestra con resultado negativo se le debe realizar la prueba Du, como una forma de confirmar si es Rh D positivo o Rh D negativo. Se exceptúan las muestras de sangre provenientes de recién nacidos.

### **Interpretación**

La aglutinación de los hematíes por el antisuero anti-D indica la presencia del antígeno en la membrana del glóbulo rojo. La ausencia de aglutinación no indica necesariamente la ausencia Rh o antígeno D en la membrana del hematíe. *Dueñas(2003)*

### **2.2.17 Variante Antigénica Du**

Existe una variante débil del antígeno D (en menor importancia C o E), denominado D<sup>u</sup> (C<sup>u</sup> o E<sup>u</sup>). Se encuentra en algunos individuos, aunque raros, en cuyas células faltan algunos (- D -) o todos (---) los antígenos Rh. En estos últimos casos, el estado se denomina Rh - nulo. Dichas células tienen un tiempo de supervivencia corta y quizás poseen un defecto estructural básico en su membrana.

### **Antígeno D<sup>u</sup>**

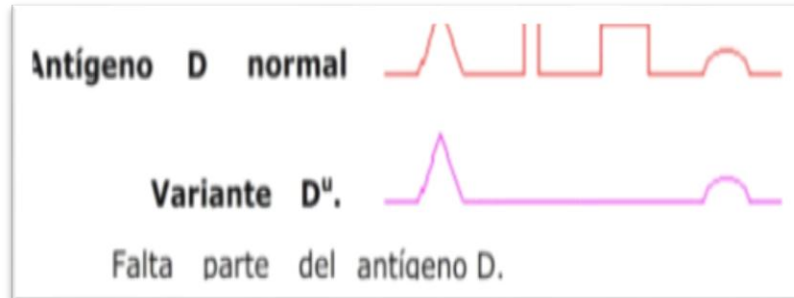
Es una variante débil del antígeno D, poco frecuente entre los individuos caucásicos, pero común entre los individuos de raza negra (22%). Los hematíes D<sup>u</sup> generalmente dan reacciones débiles o negativas con el anticuerpo anti - D, siendo detectados gracias a la prueba indirecta de la antiglobulina (Coombs).

### **Variante D<sup>u</sup>**

Presenta una estructura que consta como mínimo de 4 partes; si faltan una o más partes del antígeno, el resto puede tener una expresión débil. Por esta

razón los individuos que pertenecen a dicha variante, deben ser transfundidos con sangre Rh (-).

Figura N°- 2.28: Variante Du.

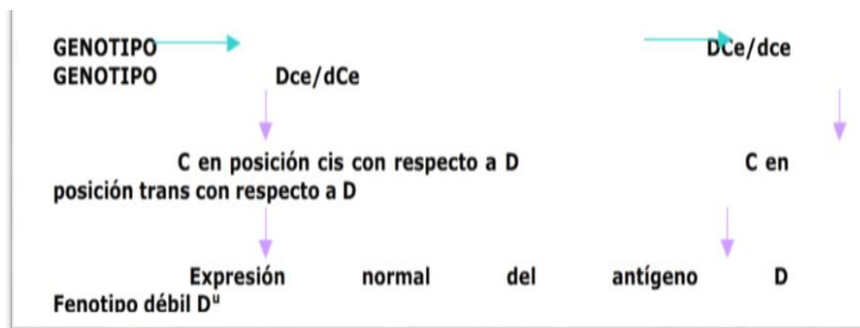


Fuente: (<http://es.scribd.com/doc/105712174/6/Antigeno-Du>)

### D<sup>u</sup> Adquirido

La herencia del gen C en posición trans con relación al gen D (Ejemplo; dCe/DcE), tiene como resultado una expresión débil del antígeno D en los hematíes (Du). Los individuos que presentan estas características no producen anti- D si reciben sangre Rh (+).

Figura N°- 2.29: Representación Du adquirido.

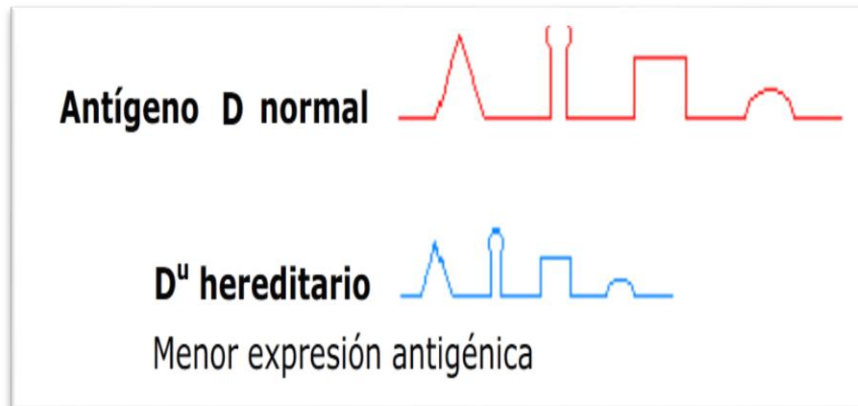


Fuente:( <http://es.scribd.com/doc/105712174/6/Antigeno-Du>)

### D<sup>u</sup> hereditario

Algunos individuos D<sup>u</sup> no pueden ser clasificados como D<sup>u</sup> adquirido, ni como variante D<sup>u</sup>, puesto que si bien poseen el antígeno D completo, éste está débilmente expresado desconociéndose la causa de este hecho. *Dueñas(2003)*

Figura N°- 2.30: Antígenos normal hereditario.



Fuente: (<http://es.scribd.com/doc/105712174/6/Antigeno-Du>)

### 2.2.18 Identificación de anticuerpos irregulares.

#### Anticuerpos irregulares e inespecíficos:

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

Las Reacciones transfusionales cuya aparición puede ser inmediata y sus efectos que van de leves a graves 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 antígeno, componentes leucocitarios, plaquetarios, eritrocitarios o del sistema HLA.

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 ginecoobstétricos,

para indagar respecto a una probable enfermedad hemolítica del recién nacido. En este contexto podemos considerar a los anticuerpos autoinmunes como anticuerpos irregulares o adquiridos y dividir a los Aloanticuerpos de la siguiente forma: Regulares naturales; los producidos contra el sistema ABO (anti-A y anti-B). Irregulares naturales: anti A1, anti-M, anti-N, anti-P1, anti-E, entre otros. Irregulares adquiridos o inmunes; anti sistema RhHr (anti-D. anti-c, anti-C, y otros), anti-Kell, anti-Duffy.

Desde el punto de vista de la medicina transfusional los anticuerpos contra antígenos sanguíneos se clasifican de la siguiente manera:

- **Aloanticuerpos**
- **Autoanticuerpos**

En este contexto podemos considerar a los anticuerpos autoinmunes como anticuerpos irregulares o adquiridos, y dividir a los Aloanticuerpos de la siguiente forma:

**Regulares naturales:** Los producidos contra el sistema ABO (anti-A y anti-B). Son preferentemente inmunoglobulinas M, las cuales fijan de manera tan eficiente el complemento que pueden provocar lisis intravascular y ocasionar insuficiencia renal o incluso la muerte del paciente.

**Irregulares naturales:** Son anti A1, anti-M, anti-N, anti-P1. anti-E, etc.

**Irregulares adquiridos o inmunes;** anti sistema Rh-Hr (anti-D. anti-c, anti-C, y otros), anti Kell, anti-Duffy. Son el resultado de la exposición a antígenos desconocidos por el individuo al momento de la transfusión o en las mujeres por el embarazo.

Tabla 12. Antígenos para tipificación de anticuerpos irregulares, por medio del método de aglutinación en gel y panel.

Tipo de célula	Rh-hr					Kell					Duffy		Kidd		Lewis		P			MNS			Luth		Xg		Resultados mx.
	D	C	E	c	c <sup>st</sup>	K	k	Kp <sup>a</sup>	Kp <sup>b</sup>	Jk <sup>a</sup>	Jk <sup>b</sup>	Fy <sup>a</sup>	Fy <sup>b</sup>	Jk <sup>b</sup>	Jk <sup>b</sup>	Le <sup>a</sup>	Le <sup>b</sup>	P <sub>1</sub>	M	N	S	s	Lu <sup>a</sup>	Lu <sup>b</sup>	Xg <sub>1</sub>	Xg <sub>2</sub>	
1	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	0	+	+	0	+	0	0	0	+	+	+	
2	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	0	+	+	+	
3	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	0	0	0	+	+	+	0	0	+	0	+	+	+	
4	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	+	+	0	+	+	+	
5	0	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	0	0	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	
6	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	+	+	0	0	0	0	+	0	+	+	+	+	0	+	0	0	
7	0	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	0	+	+	0	+	0	0	0	+	0	0	
8	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	0	+	+	0	0	0	+	0	0	+	+	+	0	0	
9	0	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	0	0	0	0	+	0	+	0	+	+	+	+	
10	0	0	0	+	+	0	+	0	+	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	
11	0	0	0	+	+	0	+	+	+	0	+	+	0	0	0	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	0	

Fuente: ([http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06\\_2707.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2707.pdf))

Los Aloanticuerpos irregulares (adquiridos) más comunes en nuestra población son los que involucran a los sistemas MNSs, P1, Kidd (Jka, Jkb), Duffy (Fya, Fyb), Kell, Lewis y Diego.

**Clasificación de acuerdo a la temperatura de reacción:** Se dividen en anticuerpos fríos y anticuerpos calientes. Los anticuerpos fríos van dirigidos contra los sistemas MN, Lewis y P1, con óptima reacción a temperaturas entre 4 y 22 °C; estos anticuerpos son generalmente inmunoglobulinas tipo M y ocasionalmente tipo G, y debido a esa temperatura de reacción carecen de importancia clínica salvo que su reacción ocurra también a 37 °C, es decir, que actúen como anticuerpos calientes. Entre estos anticuerpos sólo M y N han sido asociados con enfermedad hemolítica del recién nacido, cuya severidad va de leve a moderada. Los anticuerpos calientes tienen una temperatura óptima de reacción a 37 °C, a veces visible pero en otras ocasiones sólo evidente hasta agregar antiglobulina humana (suero de Coombs). Estos anticuerpos se les asocia con reacciones transfusionales de intensidad moderada a severa, que pueden ocasionar la muerte; además,

son causantes de enfermedad hemolítica en el recién nacido, quien en ocasiones requiere exsanguinotransfusión. Luna (2005)

Tabla 13. Frecuencia de los grupos sanguíneos presentes, en el total de los pacientes muestreados en el estudio.

Frecuencia de los grupos sanguíneos presentes, en el total de los pacientes muestreados en este estudio						
Grupo sanguíneo	Frecuencia en pacientes con AI's	Porcentaje (con AI's)	Frecuencia en el resto de pacientes muestreados	Porcentaje (sin AI's)	Frecuencia absoluta total	Porcentaje total
O+	128	64%	647	71%	775	69.75%
O-	23	11.5%	64	7%	87	7.83%
A+	22	11%	191	21%	213	19.17%
B+	21	10.5%	9	1%	30	2.7%
AB+	4	2%	0	0%	4	0.36%
B-	2	1%	0	0%	2	0.18%
Total	200	100%	911	100%	1,111	100%

Fuente: datos experimentales, banco de sangre del Hospital General San Juan de Dios, de

Fuente: [http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06\\_2707.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2707.pdf)

Tabla 14. Distribución de la frecuencia absoluta y porcentaje por género de cada uno de los anticuerpos irregulares encontrados en pacientes estudiados.

Distribución de la frecuencia absoluta y porcentaje por género de cada uno de los anticuerpos irregulares encontrados en los pacientes muestreados en el Hospital General San Juan de Dios						
AI's	Mujeres		Hombres		Totales	
	Frecuencia Absoluta	Porcentaje de los AI's encontrados	Frecuencia Absoluta	Porcentaje de los AI's encontrados	Frecuencia Absoluta	% AI's
Js <sup>a</sup>	22	11%	36	18%	58	29%
E	21	10.5%	14	7%	35	17.5%
D	8	4%	17	8.5%	25	12.5%
Le <sup>b</sup>	5	2.5%	11	5.5%	16	8%
Js <sup>b</sup>	4	2%	7	3.5%	11	5.5%
Kp <sup>a</sup>	4	2%	6	3%	10	5%
M	4	2%	5	2.5%	9	4.5%
Le <sup>a</sup>	4	2.5%	4	1.5%	8	4%
C	5	2%	3	2%	8	4%
Fy <sup>a</sup>	2	1%	5	2.5%	7	3.5%
N	2	1%	4	2%	6	3%
S	2	1%	2	1%	4	2%
JK <sup>a</sup>	1	0%	0	0%	1	0.5%
Lu <sup>a</sup>	1	0.5%	0	0%	1	0.5%
P <sub>1</sub>	0	0.5%	1	0%	1	0.5%
Total general	85	42%	115	58%	200	100%

Fuente: datos experimentales, banco de sangre del Hospital General San Juan de Dios, de

Fuente: [http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06\\_2707.pdf](http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2707.pdf)

## Procedimiento

- Etiqueta del tubo un ensayo para cada ejemplo de glóbulos rojos panel para ser probado y un tubo adicional para el control automático.
- Añadir dos gotas de suero o plasma del paciente a cada tubo. Revisar los tubos para asegurar que el suero / plasma está presente en cada uno.
- A cada tubo añadir 1 gota de glóbulos rojos al 5% de sangre apropiada de las células del panel
- Añadir 1 gota de glóbulos rojos al 5% de células rojas de la sangre del paciente para el tubo de control automático y mezclar los tubos completamente con agitación suave.
- Incubar por 5 15 minutos (opcional)
- Centrifugar todos los tubos durante el tiempo especificado por calibración de la centrífuga serológica en uso (aproximadamente 15 segundos)
- Inspeccionar el sobrenadante para la hemólisis y a continuación, volver a suspender el botón celular usando agitación suave. Utilizar una ayuda óptica (por ejemplo, visor de aglutinación) si está disponible.
- Grado de la reacción de 0 a 4+ y grabar simultáneamente en el espacio apropiado en el antigrama.
- Añadir dos gotas de reactivo LISS a cada tubo.
- Mezclar por agitación y se incuba durante 10 a 15 minutos (según instrucciones del fabricante) a 37 ° C en un baño de agua o bloque de calor.
- Centrifugar, leer y registrar las reacciones de cada tubo en el espacio correspondiente en el antigrama.
- Proceder con la prueba antiglobulínica indirecta, luego de lavar cada tubo tres o cuatro veces con solución salina fisiológica (esto se puede hacer manualmente o mediante el uso de un lavador de células serológicas automatizadas. Añadir 1 o 2 gotas de antiglobulina humana al botón seco de las células rojas de la sangre en cada tubo. Mezclar.

- Centrifuga, leer y registrar las reacciones de cada tubo en el espacio correspondiente en el antigrama.
- A cada tubo de ensayo con resultado negativo de la prueba antiglobulínica indirecta, añadir 1 gota de IgG-revestido. Verificar las células. Mezclar
- Centrifugar, leer y registrar los resultados.

**Nota:** Resultados de la prueba antiglobulínica indirecta sólo se considerarán válidas si las células de verificación reaccionaron como se esperaba, lo que indica que el lavado con solución salina era suficiente para eliminar las proteínas de suero no unidos a los eritrocitos de prueba.

### **Principio de exclusión**

Interpretación del panel de identificación de anticuerpos se realiza mediante el análisis de una manera lógica paso a paso de las células del panel que eran no reactivas con el suero del paciente y las que fueron reactivas. Este proceso es llamado descartando anticuerpos. Las reacciones serológicas documentados durante las pruebas de suero del paciente, que son desconocidos se compararán con el fenotipo de cada panel conocido.

*Rudmann (2005)*

### **2.2.19 Valoración de las variantes Du**

#### **Principio de la prueba Du:**

La expresión del antígeno D en el grupo de los "D débiles" está disminuida en número de copias de antígeno D, por lo que su presencia tiene que ser demostrado mediante la técnica de la antiglobulina con previa incubación de los hematíes con anti-D a 37°C. Las muestras de pacientes, donantes, gestantes que demuestren reacción negativa o muy débil en tubo o lámina deben ser analizadas con la técnica de la variedad D<sup>u</sup>. Las personas con



factores Rhesus en su sangre se clasifican como Rh positivas; mientras que aquellas sin los factores se clasifican RH negativas. Las personas Rh negativas forman anticuerpos contra el factor Rh, si están expuestas a sangre Rh positiva. Los antígenos del sistema Rh son de naturaleza proteica. El antígeno D posee la mayor capacidad antigénica. Los genes responsables de este sistema se localizan en el cromosoma 1. Existen dos teorías sobre el control genético. Teoría de Fisher: Tres genes C, D, E (presentan antígeno D aquellas combinaciones que contengan el alelo D como por ejemplo cDe). Teoría de Wiener: En determinados casos se expresa un antígeno D débil Du (Rh-) como consecuencia de:

- La represión del gen D por un gen C en posición trans (cromosoma opuesto).
- La existencia de un alelo Du.
- La formación de un antígeno D incompleto.

Una persona puede ser Rh negativo Du positivo. Esto significa que es un antígeno débil que no se manifiesta, dando como resultado Rh negativo, pero puesto que su existencia puede ser demostrada genéticamente se puede hablar de Rh negativo Du positivo.

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

- Suero comercial anti-D.
- Reactivo control de Rh, o albúmina.
- Reactivo antiglobulina humana (anti-IgG, -C3d).
- Tubos 10 x 75 mm,
- Pipetas Pasteur
- Lámpara
- Lente de magnificación
- Centrifuga.

**Procedimiento:**

- Rotular 2 tubos con D y Albúmina (Autocontrol)
- Colocar una gota de anti-D en el tubo rotulado como D.
- Colocar una gota de albúmina en el tubo rotulado como Albúmina.
- Añadir a cada tubo una gota de suspensión de hematíes problema
- Mezclar suavemente el contenido de los tubos y centrifugar durante 15 - 30 segundos a 3500 R.P.M.
- Resuspender suavemente el botón de hematíes y examinar en búsqueda de aglutinación.
- Incubar a 37 °C durante 15 a 30 minutos, el tubo en que se está realizando la prueba Rh y el tubo autocontrol.
- Lavar ambos tubos tres (3) veces con solución salina, decantando completamente la salina después de cada lavado.
- Agregar a cada tubo dos (2) gotas del suero de antiglobulina humana.
- Mezclar.
- Centrifugar, leer y anotar los resultados del tubo frente a una fuente de luz para observar correctamente si existe hemólisis o aglutinación.
- Comprobar los resultados negativos, con células control de Coombs.

**Reporte de resultados**

- Si el resultado es positivo en el tubo de Rh y negativo en el tubo autocontrol, el resultado es D<sup>u</sup>, D débil y se interpreta como Rh positivo.
- Para propósitos de donación se comporta como Rh positivo. Para transfusión también se considera como Rh positivo.
- Si no hay aglutinación en ninguno de los tubos, el resultado es Rh negativo.
- Si hay aglutinación en la prueba D<sup>u</sup> y en la prueba autocontrol, la prueba no es válida.

- El autocontrol nos permite detectar anticuerpos sobre la membrana de los glóbulos rojos, los cuales interfieren en la interpretación de las formas débiles de D.

**Notas de procedimiento:** Las pruebas negativas para D<sup>u</sup> en la fase antiglobulina deben confirmarse mediante la "Prueba Control de Coombs".

Una aglutinación de campo mixto (reacción débil) en la prueba Du y en el auto - control en una mujer puérpera puede indicar una mezcla de sangre Rh negativo de la madre con Rh positivo del niño (hemorragia feto materna). Algunos individuos con D débil (D<sup>u</sup>) pueden tener anti-D. Esto se debe algunos fenotipos de grupo D débil parcial.

### **Limitaciones**

Si los hematíes están recubiertos con Inmunoglobulinas G y demuestran un Coombs directo positivo, la prueba de la variante D<sup>u</sup> no puede ser realizada.

*Dueñas(2003)*

## **2.3 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS.**

**AGLUTINACIÓN:** Forma de reacción antígeno-anticuerpo en la cual son necesarios anticuerpos solubles divalentes o polivalentes y antígenos celulares o particulados.

**ALMACENAMIENTO DE LA SANGRE:** Proceso que se lleva a cabo en el laboratorio para asegurarse de que la sangre donada o los productos derivados de la sangre sean seguros antes de ser utilizados en transfusiones de sangre y otros procedimientos médicos. El almacenamiento de la sangre incluye la determinación del grupo sanguíneo y el "cross matching" (prueba

cruzada de compatibilidad entre donante y receptor) de la sangre que se utilizará en transfusiones.

**ALOINMUNIZACIÓN:** Es la generación de aloanticuerpos (anticuerpos irregulares o isoanticuerpos) contra antígenos de la misma especie, generalmente de las células sanguíneas como consecuencia de una transfusión o embarazo anterior.

**ANTICUERPO:** Sustancia de naturaleza glucoproteica denominada inmunoglobulina (Ig) que es producida como respuesta del sistema inmunitario ante la presencia de una sustancia extraña llamada antígeno. Cada anticuerpo se fabrica expresamente para un determinado antígeno con tal grado de especificidad que antígeno y anticuerpo suelen designarse con el nombre del antígeno y el prefijo anti-.

**ANTICUERPO HUMANIZADO:** Anticuerpo monoclonal codificado por un gen híbrido recombinado y compuesto por los lugares de unión al antígeno pertenecientes a un anticuerpo humano. Los anticuerpos humanizados tienen menos probabilidades de desencadenar una respuesta de anti anticuerpos en el hombre que en los anticuerpos monoclonales del ratón.

**ANTÍGENO:** Los antígenos pueden ser cualquier tipo de molécula, aunque los más abundantes son los antígenos con estructura proteica. No todo el antígeno se une al anticuerpo; sólo se une una pequeña parte, conocida con el nombre de determinante antigénico o epítipo.

**ANTIGENICIDAD:** Poder de comportarse como un antígeno, es decir, de provocar la formación de anticuerpos. Para ciertos autores la antigenicidad sería la facultad para el antígeno de modificar el comportamiento

inmunológico del organismo en el cual se ha introducido, sin que por ello haya forzosamente producción de anticuerpos.

**AUTOANTICUERPO:** Anticuerpo que reacciona contra antígenos del huésped donde fue generado.

**AUTOANTÍGENO:** Constituyente endógeno del cuerpo que estimula la producción de autoanticuerpos, dando lugar a una reacción de autoinmunidad dirigida contra uno o más tejidos del organismo en el que se produce este tipo de reacción anormal.

**BANCO DE SANGRE:** Es todo establecimiento o dependencia con Licencia Sanitaria de Funcionamiento para adelantar actividades relacionadas con la obtención, procesamiento y almacenamiento de sangre humana destinada a la transfusión de la sangre total o en componentes separados, a procedimientos de aféresis y a otros procedimientos preventivos, terapéuticos y de investigación. Tiene como uno de sus propósitos asegurar la calidad de la sangre y sus derivados.

**BOLSA DE SANGRE PEDIÁTRICA:** Se obtiene en equipos especiales con 4 u 8 bolsas satélites en circuito cerrado que permiten obtener de 4 a 8 alícuotas de sangre provenientes de un mismo donante con un período de vida útil similar al de la bolsa madre. Para esto se requiere mantener el circuito cerrado mediante un sistema de conector estéril.

**CÉLULAS BLANCAS (LEUCOCITOS):** Las células de la sangre que cumplen con las funciones de defensa del organismo contra agentes extraños.

Por ejemplo algunas de ellas atacan las bacterias atravesando las paredes de los vasos capilares hasta alcanzar el área de infección y de esta manera ayudar a que se evite un daño grave al organismo.

**CÉLULAS ROJAS:** También llamadas eritrocitos o hematíes. Transportan el oxígeno que consumen las células del organismo y eliminan el bióxido de carbono.

Esta función la realizan por medio de la hemoglobina, proteína con un alto contenido en hierro. Las células rojas pueden ser conservadas por un periodo de 35-42 días.

**COMPONENTES PLASMÁTICOS:** Son todos aquellos componentes sanguíneos carentes de glóbulos rojos.

**CONCENTRADO DE GLÓBULOS ROJOS:** Es aquel componente sanguíneo obtenido de la centrifugación de la sangre total una vez que se separa la mayor parte del plasma.

**EXANGUINOTRANSFUSIÓN:** Es el procedimiento por el cual se sustituye la sangre de un paciente por sangre homóloga, intercambiándose pequeños volúmenes sucesivamente con fines terapéuticos.

**FACTOR RH:** Es una proteína integral de la membrana aglutinógena de los glóbulos rojos. Son Rh positivas aquellas personas que presenten dicha proteína en sus eritrocitos y Rh negativa quienes no presenten la proteína.

**GLOBULINA:** Proteína que se caracteriza por ser insoluble en agua y en soluciones salinas muy concentradas, si bien es soluble en soluciones salinas moderadamente concentradas. Las globulinas plasmáticas

desempeñan importantes funciones como el transporte de reactantes de fase aguda, coagulación de la sangre, etc.

**IN VITRO:** Se refiere a una técnica para realizar un determinado experimento en un tubo de ensayo, o generalmente en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo. La fecundación in vitro es un ejemplo.

**PRECIPITACIÓN:** Combinación específica de anticuerpos precipitantes con los correspondientes antígenos solubles. Al principio se forman complejos Antígeno - Anticuerpo soluble y luego se produce la agregación de estos complejos en inmunoprecipitados

**PRUEBAS PRETRANFUSIONALES O DE COMPATIBILIDAD:** Son aquellas pruebas requeridas con el fin de garantizar la compatibilidad entre el donante de sangre y el receptor de una transfusión. Dentro de éstas están: tipificación directa e inversa ABO, tipificación Rh D, rastreo de anticuerpos irregulares, prueba de antiglobulina humana directa (Coombs directo) y prueba cruzada mayor.

## **2.4 HIPÓTESIS Y VARIABLES.**

### **2.4.1 HIPÓTESIS.**

Se puede valorar aglutininas Anti-D con la realización de la prueba antiglobulínica indirecta, al transfundir concentrados hemáticos Rh D negativos/Du positivos a pacientes Rh D negativos/Du negativos.

### **2.4.2 VARIABLES**

#### **VARIABLE INDEPENDIENTE.**

Realización de la prueba antiglobulínica indirecta.

## VARIABLE DEPENDIENTE.

Valoración de aglutininas anti-D

### 2.5 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	CONCEPTO	CATEGORIA	INDICADORES	TÉCNICA
<b>Independiente:</b> Realización de la prueba antiglobulinica indirecta.	Prueba que valora la presencia de anticuerpos inespecíficos o irregulares.	Prueba inmunohemato-lógicas.	Reacción de hemaglutinación positiva o negativa	Observación. Técnica para la realización de la prueba antiglobulínica indirecta. <b>INSTRUMENTO</b> Guía de observación. Antigrama para reporte de resultados.
<b>Dependiente:</b> Valoración de aglutininas anti-D	Anticuerpos inespecíficos que surgen por estímulos antigénicos conocidos.	Variante antigénica del sistema Rh.	Reacción de hemaglutinación positiva o negativa	<b>TÉCNICA:</b> Observación <b>INSTRUMENTO</b> Guía de observación.



## CAPÍTULO III

### 3 MARCO METODOLÓGICO

#### 3.1 MÉTODO CIENTÍFICO

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

**MÉTODO DEDUCTIVO:** Nos permite estudiar la problemática de manera general para analizar conclusiones particulares.

**MÉTODO INDUCTIVO:** Nos permite estudiar el problema de manera particular para llegar a alcanzar conclusiones generales.

**LA APLICACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO:** Nos permitió analizar los componentes sanguíneos de las muestras del donador como del receptor.

**LA UTILIZACIÓN DEL MÉTODO SINTÉTICO:** Nos permitió unificar todos los conceptos y los diversos elementos para formular una teoría.

**LA APLICACIÓN DEL MÉTODO EXPLICATIVO:** Manifestamos las causas y consecuencias de nuestro tema de estudio.

#### TIPO DE INVESTIGACIÓN

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

**DESCRIPTIVA:** Porque una vez que se realiza el estudio de la problemática a investigarse describimos con fundamentos de causa y consecuencia.

**EXPLICATIVA:** Porque sobre la base del procedimiento de la información recopilación de textos, libros, folletos, llegamos a establecer las causas y consecuencias por las que se realizan las pruebas de compatibilidad.

### **DISEÑO DE INVESTIGACIÓN**

Esta investigación fue de campo, no experimental.

**DE CAMPO:** Debido a que el proceso investigativo se llevó a cabo en un lugar específico en este caso en el laboratorio de Inmunohematología del Servicio de Medicina Transfusional del H.P.G.D.R.

## **3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA**

### **3.2.1 POBLACIÓN**

La presente investigación está constituida por 178 muestras de sangre.

### **3.2.2 MUESTRA**

El universo de estudio es relativamente pequeño y no se obtuvo muestra por lo que se trabajó con el total de la población.

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

### **Técnicas:**

- Observación
- Análisis documental
- Recopilación bibliográfica.

### **Instrumentos:**

Guía de observación.

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

**Técnicas Estadísticas:** La técnica estadística que se utilizó para el procesamiento de la información fue Excel: paquete informático que permitió obtener y establecer frecuencia, porcentajes, cuadros y gráficos estadísticos.

**Técnicas Lógicas:** Dada la interpretación de los datos estadísticos se utilizaron la inducción y la síntesis, técnicas de interpretación que permitieron comprobar el alcance de los objetivos, comprobación de la hipótesis y establecer conclusiones.

## CAPITULO IV

### 4. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.

#### 4.1 DATOS ESTADÍSTICOS

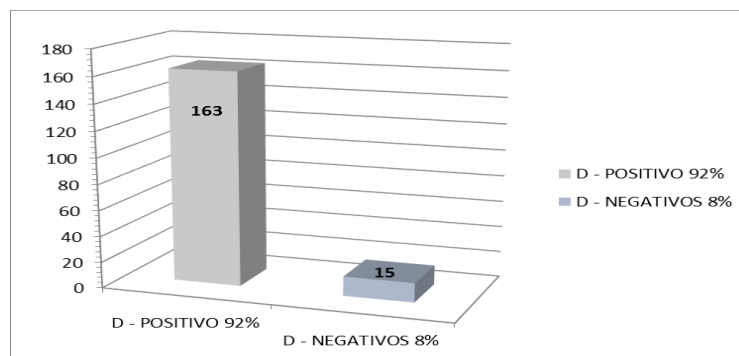
##### 1. CANTIDAD DE ENSAYOS RH D POSITIVOS Y NEGATIVOS ENCONTRADOS DE 178 DETERMINACIONES DURANTE EL PERIODO MARZO - AGOSTO EN EL HOSPITAL GENERAL DOCENTE DE RIOBAMBA, RIOBAMBA, 2013.

TABLA N°- 4.1

D - POSITIVO	D – NEGATIVOS
163	15

FUENTE: BASE DE DATOS H.P.G.D.R  
ELABORADO POR: ALEX MOTOCHÉ VELÍN

GRÁFICO N°- 4.1 .



FUENTE: 4.1.  
AUTOR: ALEX MOTOCHÉ VELÍN

INTERPRETACIÓN.- En el periodo de investigación de Marzo - Agosto 2013, se realizaron 178 determinaciones para valorar al antígeno D del sistema Rh, de este total 163 son considerados resultados Rh D positivos, su relación en porcentaje es de 92 % y 15 Rh D negativos, que en relación porcentual es de un 8%, en ambos casos se aplicó en los ensayos de tipificación el control CDE para confirmar el resultado, de los ensayos D negativos se procederá a la evaluación confirmatoria, mediante la aplicación de la prueba Du.

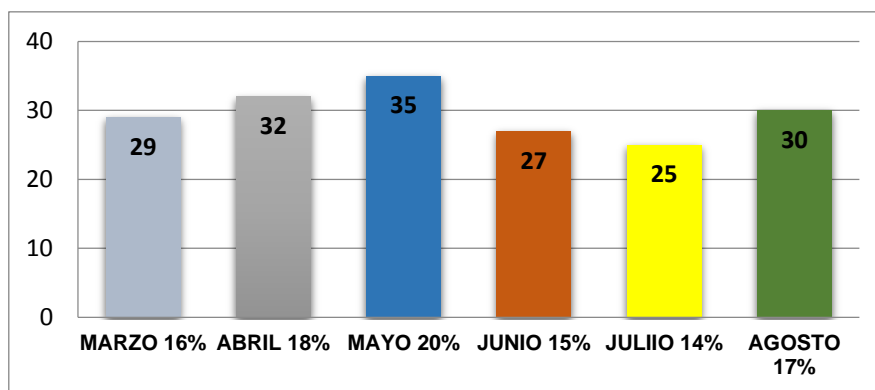
**2. CANTIDAD DE ENSAYOS REALIZADOS POR MES DURANTE EL PERIODO MARZO - AGOSTO EN EL HOSPITAL GENERAL DOCENTE DE RIOBAMBA, RIOBAMBA, 2013.**

**TABLA N°- 4.2**

<b>MES</b>	<b>CANTIDAD DE ENSAYOS</b>
MARZO	29
ABRIL	32
MAYO	35
JUNIO	27
JULIO	25
AGOSTO	30
<b>TOTAL</b>	<b>178</b>

*FUENTE: BASE DE DATOS H.P.G.D.R  
ELABORADO POR: ALEX MOTOCHÉ VELÍN*

**GRÁFICO N°- 4.2**



*FUENTE: 4.2  
ELABORADO POR: ALEX MOTOCHÉ VELÍN*

**INTERPRETACIÓN.-** Durante el periodo Marzo - Agosto 2013 que dura la investigación se realizaron 178 determinaciones Rh, el mes de mayor representación porcentual por cantidad de ensayos realizados es el de Mayo con 35 evaluaciones correspondientes al 20 % del total de ensayos, el mes en el que se registra menor cantidad de ensayos realizados es en el Julio con 25 determinaciones y en relación porcentual corresponde al 14 %.

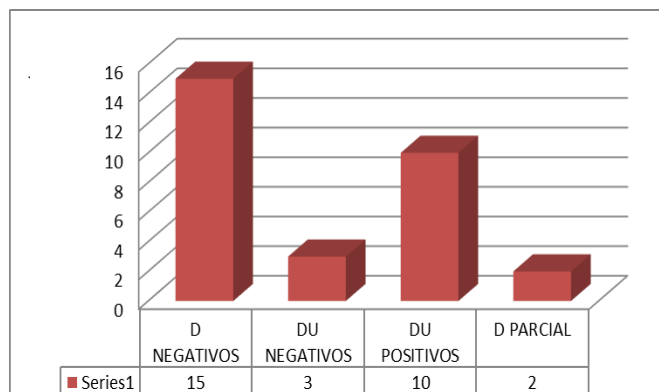
**3. CONFIRMACIÓN DE LA EXPRESIÓN D MEDIANTE LA PRUEBA Du EN 15 MUESTRAS Rh D NEGATIVOS DURANTE EL PERIODO MARZO - AGOSTO EN EL HOSPITAL GENERAL DOCENTE DE RIOBAMBA, RIOBAMBA, 2013.**

**TABLA N°- 4.3**

D NEGATIVOS	15
Du NEGATIVOS	3
Du POSITIVOS	10
D PARCIAL	2

FUENTE: BASE DE DATOS H.P.G.D.R  
ELABORADO POR: ALEX MOTOCHÉ VELÍN

**GRÁFICO N°- 4.3**



FUENTE: 4.3  
REALIZADO POR: ALEX MOTOCHÉ VELÍN

**INTERPRETACIÓN.-** Del total de ensayos identificados como Rh D negativos, se confirman que no todos son así, ya que se aplicó la prueba confirmatoria llamada Du, en la que se identificó que 3 ensayos son Rh D negativos por carecer del antígeno D, 10 son reportados como Du positivos, es decir que tienen poca cantidad del antígeno D y 2 son Rh D parciales, esto significa que tienen poca cantidad del antígeno D pero a su vez poseen anticuerpos contra este antígeno de forma natural en estos pacientes.

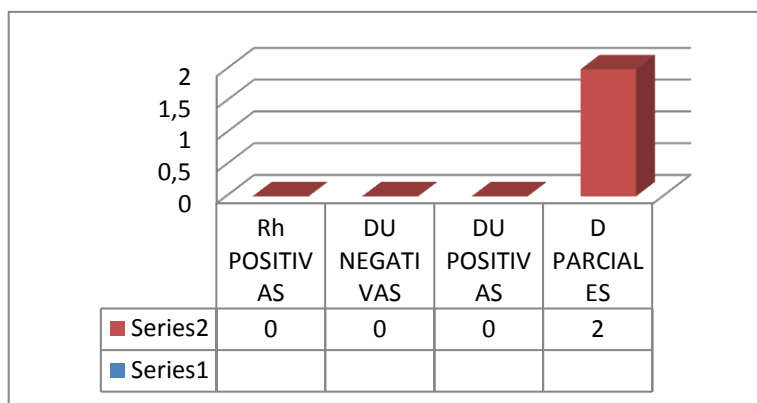
**4. VALORACIÓN DE ANTICUERPOS IRREGULARES MEDIANTE COOMBS INDIRECTA EN 178 DETERMINACIONES DURANTE EL PERIODO MARZO - AGOSTO EN EL HOSPITAL GENERAL DOCENTE DE RIOBAMBA, RIOBAMBA, 2013.**

**TABLA N°- 4.4**

Rh POSITIVAS	0
DU NEGATIVAS	0
DU POSITIVAS	0
D PARCIALES	2

FUENTE: BASE DE DATOS H.P.G.D.R  
ELABORADO POR: ALEX MOTOCHÉ VELÍN

**GRÁFICO N°- 4.4**



FUENTE: 4.4  
ELABORADO POR: ALEX MOTOCHÉ VELÍN

**INTERPRETACIÓN.-** Del total de ensayos realizados, se procedió a identificar si tienen o no anticuerpos irregulares, esto mediante la realización de la prueba de coombs indirecto, las muestras de sangre que presentaron el anticuerpo llamado anti-d fueron las tipadas como D parciales, la identificación rutinaria del grupo sanguíneo que se hace se reporta como Rh D positivos, pero no se considera que esta terminología parcial puede generar anticuerpos anti-d, en las personas poseedoras de este antígeno no se observa la reacción directa, debido a que el antígeno D parcial no es completo para reaccionar con el propio anticuerpo anti -D que posee.

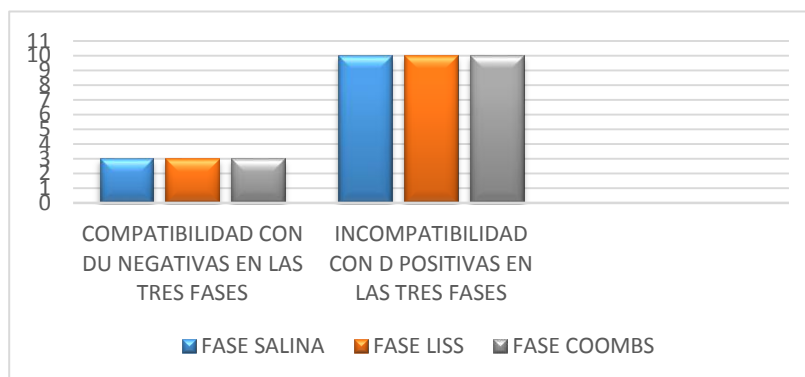
**5. COMPATIBILIDAD Rh D POSITIVA PARCIAL CON MUESTRAS RH D NEGATIVAS Y Rh D POSITVAS EFECTUADAS EN 15 DETERMINACIONES RESULTANTES Rh D NEGATIVOS DURANTE EL PERIODO MARZO - AGOSTO EN EL HOSPITAL GENERAL DOCENTE DE RIOBAMBA, RIOBAMBA, 2013.**

**TABLA N°- 4.5**

<b>FASES</b>	<b>COMPATIBILIDAD CON DU NEGATIVAS EN LAS TRES FASES</b>	<b>INCOMPATIBILIDAD CON D POSITIVAS EN LAS TRES FASES</b>
FASE SALINA	3	10
FASE LISS	3	10
FASE COOMBS	3	10

FUENTE: 4.5.  
ELABORADO POR: ALEX MOTOCHÉ VELÍN.

**GRÁFICO N°- 4.5**



FUENTE: 4.5  
ELABORADO POR: ALEX MOTOCHÉ VELÍN.

**INTERPRETACIÓN.-** Se compatibiliza 13 ensayos con el plasma de 2 muestras D parciales, con las tres muestras Du negativas no se reporta reacción in vitro, pero con los 10 ensayos Du positivos existe reacción de incompatibilidad, en el plasma de las muestras D parciales se identificó el anticuerpo anti-D y en las 10 muestras de los ensayos Du positivos se identificaron la presencia del antígeno D, esta reacción antígeno D más anticuerpo anti-D.



## 4.2 COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS

### 4.2.1. Hipótesis de la investigación

**H<sub>i</sub>:** Se puede valorar aglutininas Anti-D con la realización de la prueba antiglobulínica indirecta, al transfundir concentrados hemáticos Rh D negativos/Du positivos a pacientes Rh D negativos/Du negativos.

**Estadígrafo:** Porcentaje

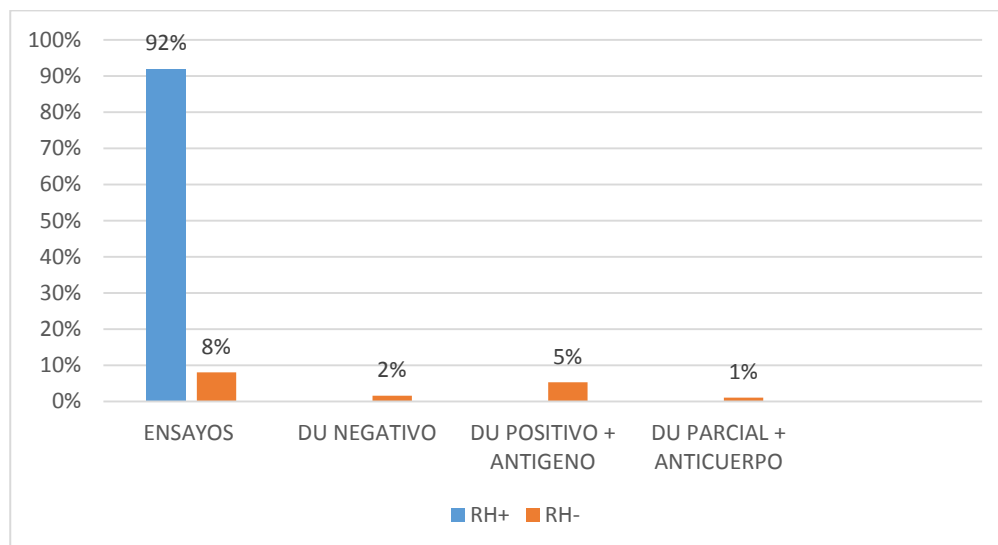
**Formula:**  $\% = (\text{cantidad} \times 100) / \text{total}$

### TABLA RESUMEN

TABLA 4.6

TIPIFICACION	ENSAYOS	DU NEGATIVO	DU POSITIVO + ANTIGENO	DU PARCIAL + ANTICUERPO
RH+	92%			
RH-	8%	2%	5%	1%

GRÁFICO 4.6



#### **4.2.2 Interpretación.**

Durante el periodo Marzo - Agosto del año 2013 en el Hospital General Docente de Riobamba, se realizó 178 determinaciones en muestras de sangre de pacientes que acudieron al área del Servicio de Medicina Transfusional donde se efectuó la tipificación rutinaria en la cual se identificó que 163 muestras fueron Rh D positivos y 15 fueron Rh D negativos a las cuales se les aplicó la prueba Du dando como resultado que 3 fueron Du negativas mientras 10 fueron du positivas y 2 muestras du parciales. Luego se procedió a la identificación de anticuerpos irregulares mediante la prueba de Coombs Indirecto donde se identificó al anticuerpo anti- d en las 2 muestras Du parciales, al enfrentar de forma in vitro mediante las pruebas cruzadas con muestras Du negativas no se reporta reacción, pero con los 10 ensayos Du positivos existe reacción de incompatibilidad.

#### **4.2.3 Comprobación**

Se comprueba la presencia de anticuerpos irregulares con la prueba de Coombs indirecta o prueba antiglobulínica Indirecta ya que esta prueba es más exhaustiva y detecta correctamente anticuerpos sanguíneos. Demostrando de esta manera que antígenos eritrocitarios D parciales expresan anticuerpos anti -d lo cual se manifestó en las pruebas in vitro.

## CAPÍTULO V

### 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1 CONCLUSIONES

- En esta investigación se aprecia que hubo un predominio de muestras Rh D positivas con un 92% frente al 8% de las muestras Rh D negativas.
- Al aplicar la técnica Du se confirmó que de las 15 muestras (8%) Rh D negativas solo 3 fueron Rh D negativos, 10 resultaron ser Rh D positivas y 2 fueron Rh D parciales.
- Al aplicar la prueba antiglobulínica indirecta (PAI) se logró identificar que las 2 muestras de los pacientes Rh D negativos Du parciales poseen el anticuerpo Anti-D mientras que las 10 muestras Rh D negativas Du positivas poseen el antígeno D, al entrar en contacto estos reaccionarían y generarían una reacción transfusional es por lo que se concluye que no se puede transfundir componentes hemáticos de pacientes Rh D parciales a pacientes Rh D positivos pero si a Rh D negativos.

## 5.2 RECOMENDACIONES

- En la clasificación de grupo sanguíneo y Rh se recomienda evaluar todos los lotes de antisueros antes de utilizarlos de tal manera que deben estar almacenados de acuerdo a las instrucciones del producto para evitar resultados falsos negativos por una errónea conservación y además evitar que antisueros infectados influyan produciendo resultados falsos positivos.
- Es recomendable realizar una correcta preparación de la suspensión de glóbulos rojos problema en una concentración apropiada del 5% ya que a esta densidad la sangre contiene los elementos necesarios para su identificación mediante la prueba Du.
- En la prueba antiglobulínica indirecta es recomendable realizar estrictamente los lavados con solución salina fisiológica según indica el procedimiento para mantener un equilibrio entre las partículas que aglutinan y de esta manera obtener una correcta lectura de los resultados.

## BIBLIOGRAFÍA

### LIBROS

- Dueñas V. 2003. El Banco de Sangre. Colombia. Editorial: Universidad del Valle.
- Fiorentino, S., Rueda, N., Gutierrez, M., 1994. *La inmunología en el Diagnóstico Clínico*. Colombia: Editorial Centro Editorial Javeriano.
- Henry, J., 2010. *Laboratorio en el diagnóstico clínico*. España. Editorial: Marban.
- Garibay A. 2006. *Manual de prácticas de inmunología*. México: Editorial UniSon.
- Male k.David., 2007. *Inmunología*. España. Editorial: Elsevier.
- Müller, w., 2008. *Bioquímica fundamentos para medicina y ciencias de la vida*. España. Editorial: Reverte.
- Reguerio. J., Lopez, C., Gonzalez, S., Martinez, E., 2012. *Inmunología biología y patología del sistema inmunitario*. España. Editorial: Medica Panamericana.
- Rodríguez, H., Quintanar, E., Mejía M., 2004. *El banco de sangre y la medicina transfusional*. México. Editorial: Médica Panamericana.
- Romero, R., 2007. *Microbiología y Parasitología Humana*. México. Editorial: Medica Panamericana.
- Rudmann, S., 2005. *Textbook of Blood Banking and Transfusion Medicine*. Estados Unidos. Editorial: Elsevier Health Sciences.
- Tortora, G., Funke, B., Case, C. 2007. *Introducción a la microbiología*. Argentina. Editorial: Médica Panamericana.

## REVISTAS ELECTRÒNICAS

- Aguilar, V. (2004). Reacciones de Aglutinacion. *Medigraphic.*, 140.(3), S50-S52. Recuperado de <http://www.medigraphic.com/pdfs/gaceta/gm-2004/gms043p.pdf>
- Luna, J. (2005). Anticuerpos irregulares, su importancia en medicina transfusional. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social.*, 43.(1), s17-s20. Recuperado de <http://revistamedica.imss.gob.mx/>

## LINKOGRAFÍA

- <http://es.scribd.com/doc/3288380/Antigeno-inmunogeno>
- [http://www.fcv.unl.edu.ar/archivos/grado/catedras/inmunologia/marterial/Clases\\_Inmunologia\\_Basica/ClaseIV.pdf](http://www.fcv.unl.edu.ar/archivos/grado/catedras/inmunologia/marterial/Clases_Inmunologia_Basica/ClaseIV.pdf)
- <http://pendientedemigracion.ucm.es/info/saniani/troncales/inmunologia/documentostemas/TEMA%205.pdf>
- <http://recursostic.educacion.es/ciencias/biosfera/web/alumno/2bachillerato/inmune/contenidos11.htm>
- <http://epidemiologiamolecular.com/antigeno-reconocimiento-antigenico/>
- <http://es.scribd.com/doc/16189622/Pruebas-Cruzadas-pruebas-de-compatibilidad-sanguinea-sistema-ABO-banco-de-sangre>
- <http://bloodbanksandbeyond.wordpress.com/anticuerpos-irregulares-su-importancia-en-medicina-transfusional/>
- <http://es.scribd.com/doc/1028985/MANUAL-COMPLETO-DE-INMUNOHEMATOLOGIA>
- <http://es.scribd.com/doc/105712174/6/Antigeno-Du>

# **ANEXOS**

ENSAYOS	ANTI-D	ANTI-CDE
1	POSITIVOS	POSITIVOS
2	POSITIVOS	POSITIVO
3	NEGATIVO	NEGATIVOS
4	POSITIVOS	POSITIVOS
5	POSITIVOS	POSITIVOS
6	POSITIVOS	POSITIVOS
7	POSITIVOS	POSITIVOS
8	POSITIVOS	POSITIVOS
9	POSITIVOS	POSITIVOS
10	POSITIVOS	POSITIVOS
11	POSITIVOS	POSITIVOS
12	POSITIVOS	POSITIVOS
13	POSITIVOS	POSITIVOS
14	POSITIVOS	POSITIVOS
15	POSITIVOS	POSITIVOS
16	POSITIVOS	POSITIVOS
17	POSITIVOS	POSITIVOS
18	POSITIVOS	POSITIVOS
19	POSITIVOS	POSITIVOS
20	POSITIVOS	POSITIVOS
21	POSITIVOS	POSITIVOS
22	POSITIVOS	POSITIVOS
23	POSITIVOS	POSITIVOS
24	POSITIVOS	POSITIVOS
25	POSITIVOS	POSITIVOS
26	POSITIVOS	POSITIVOS
27	POSITIVOS	POSITIVOS
28	POSITIVOS	POSITIVOS
29	POSITIVOS	POSITIVOS

30	POSITIVOS	POSITIVOS
31	POSITIVOS	POSITIVOS
32	POSITIVOS	POSITIVOS
33	POSITIVOS	POSITIVOS
34	NEGATIVO	NEGATIVO
35	POSITIVOS	POSITIVOS
36	POSITIVOS	POSITIVOS
37	POSITIVOS	POSITIVOS
38	POSITIVOS	POSITIVOS
39	POSITIVOS	POSITIVOS
40	POSITIVOS	POSITIVOS
41	POSITIVOS	POSITIVOS
42	POSITIVOS	POSITIVOS
43	POSITIVOS	POSITIVOS
44	POSITIVOS	POSITIVOS
45	POSITIVOS	POSITIVOS
46	POSITIVOS	POSITIVOS
47	NEGATIVO	NEGATIVO
48	POSITIVOS	POSITIVOS
49	POSITIVOS	POSITIVOS
50	POSITIVOS	POSITIVOS
51	POSITIVOS	POSITIVOS
52	POSITIVOS	POSITIVOS
53	POSITIVOS	POSITIVOS
54	POSITIVOS	POSITIVOS
55	POSITIVOS	POSITIVOS
56	POSITIVOS	POSITIVOS
57	POSITIVOS	POSITIVOS
58	POSITIVOS	POSITIVOS
59	POSITIVOS	POSITIVOS



90	NEGATIVO	POSITIVOS
91	POSITIVOS	POSITIVOS
92	POSITIVOS	POSITIVOS
93	POSITIVOS	POSITIVOS
94	NEGATIVO	NEGATIVO
95	POSITIVOS	POSITIVOS
96	POSITIVOS	POSITIVOS
97	POSITIVOS	POSITIVOS
98	POSITIVOS	POSITIVOS
99	POSITIVOS	POSITIVOS
100	POSITIVOS	POSITIVOS
101	POSITIVOS	POSITIVOS
102	POSITIVOS	POSITIVOS
103	POSITIVOS	POSITIVOS
104	POSITIVOS	POSITIVOS
105	POSITIVOS	POSITIVOS
106	NEGATIVO	NEGATIVO
107	NEGATIVO	NEGATIVO
108	POSITIVOS	POSITIVOS
109	POSITIVOS	POSITIVOS
110	POSITIVOS	POSITIVOS
111	POSITIVOS	POSITIVOS
112	POSITIVOS	POSITIVOS
113	POSITIVOS	POSITIVOS
114	POSITIVOS	POSITIVOS
115	POSITIVOS	POSITIVOS
116	POSITIVOS	POSITIVOS
117	POSITIVOS	POSITIVOS
118	POSITIVOS	POSITIVOS
119	POSITIVOS	POSITIVOS

60	POSITIVOS	POSITIVOS
61	POSITIVOS	POSITIVOS
62	POSITIVOS	POSITIVOS
63	POSITIVOS	POSITIVOS
64	POSITIVOS	POSITIVOS
65	POSITIVOS	POSITIVOS
66	POSITIVOS	POSITIVOS
67	POSITIVOS	POSITIVOS
68	POSITIVOS	POSITIVOS
69	POSITIVOS	POSITIVOS
70	POSITIVOS	POSITIVOS
71	POSITIVOS	POSITIVOS
72	POSITIVOS	POSITIVOS
73	POSITIVOS	POSITIVOS
74	POSITIVOS	POSITIVOS
75	POSITIVOS	POSITIVOS
76	POSITIVOS	POSITIVOS
77	POSITIVOS	POSITIVOS
78	POSITIVOS	POSITIVOS
79	POSITIVOS	POSITIVOS
80	POSITIVOS	POSITIVOS
81	POSITIVOS	POSITIVOS
82	POSITIVOS	POSITIVOS
83	POSITIVOS	POSITIVOS
84	POSITIVOS	POSITIVOS
85	POSITIVOS	POSITIVOS
86	POSITIVOS	POSITIVOS
87	POSITIVOS	POSITIVOS
88	POSITIVOS	POSITIVOS
89	POSITIVOS	POSITIVOS

120	POSITIVOS	POSITIVOS
121	POSITIVOS	POSITIVOS
122	POSITIVOS	POSITIVOS
123	POSITIVOS	POSITIVOS
124	POSITIVOS	POSITIVOS
125	POSITIVOS	POSITIVOS
126	POSITIVOS	POSITIVOS
127	POSITIVOS	POSITIVOS
128	POSITIVOS	POSITIVOS
129	NEGATIVO	NEGATIVO
130	POSITIVOS	POSITIVOS
131	POSITIVOS	POSITIVOS
132	POSITIVOS	POSITIVOS
133	POSITIVOS	POSITIVOS
134	POSITIVOS	POSITIVOS
135	POSITIVOS	POSITIVOS
136	POSITIVOS	POSITIVOS
137	POSITIVOS	POSITIVOS
138	POSITIVOS	POSITIVOS
139	POSITIVOS	POSITIVOS
140	POSITIVOS	POSITIVOS
141	NEGATIVO	NEGATIVO
142	POSITIVOS	POSITIVOS
143	POSITIVOS	POSITIVOS
144	POSITIVOS	POSITIVOS
145	POSITIVOS	POSITIVOS
146	POSITIVOS	POSITIVOS
147	POSITIVOS	POSITIVOS
148	POSITIVOS	POSITIVOS
149	POSITIVOS	POSITIVOS

150	POSITIVOS	POSITIVOS
151	POSITIVOS	POSITIVOS
152	POSITIVOS	POSITIVOS
153	POSITIVOS	POSITIVOS
154	NEGATIVO	NEGATIVO
155	NEGATIVO	NEGATIVO
156	POSITIVOS	POSITIVOS
157	POSITIVOS	POSITIVOS
158	POSITIVOS	POSITIVOS
159	POSITIVOS	POSITIVOS
160	POSITIVOS	POSITIVOS
161	POSITIVOS	POSITIVOS
162	NEGATIVO	NEGATIVO
163	POSITIVOS	POSITIVOS
164	POSITIVOS	POSITIVOS
165	POSITIVOS	POSITIVOS
166	POSITIVOS	POSITIVOS
167	POSITIVOS	POSITIVOS
168	POSITIVOS	POSITIVOS
169	POSITIVOS	POSITIVOS
170	POSITIVOS	POSITIVOS
171	POSITIVOS	POSITIVOS
172	POSITIVOS	POSITIVOS
173	NEGATIVO	NEGATIVO
174	POSITIVOS	POSITIVOS
175	POSITIVOS	POSITIVOS
176	POSITIVOS	POSITIVOS
177	POSITIVOS	POSITIVOS
178	POSITIVOS	POSITIVOS

ANTIGENOS VALORADOS EN MUESTRAS Rh Du POSITIVAS Y NEGATIVAS							
ENSAYOS	ANTI-D	ANTI-C	ANTI-E	ANTI-c	ANTI-e	ANTI-CDE	INTERPRETACIÓN
1	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO
2	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
3	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
4	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO
5	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO
6	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
7	POSITIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
8	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
9	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
10	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
11	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
12	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
13	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

ENSAYOS DE COMPATIBILIDAD				
ENSAYOS	SALINA	LISS	COMBBS	INTERPRETACIÓN
1	REACCIÓN	REACCION	REACCION	INCOMPATIBLE
2	REACCIÓN	REACCION	REACCION	INCOMPATIBLE
3	REACCIÓN	REACCION	REACCION	INCOMPATIBLE
4	REACCIÓN	REACCION	REACCION	INCOMPATIBLE
5	REACCIÓN	REACCION	REACCION	INCOMPATIBLE
6	REACCIÓN	REACCION	REACCION	INCOMPATIBLE
7	REACCIÓN	REACCION	REACCION	INCOMPATIBLE
8	REACCIÓN	REACCION	REACCION	INCOMPATIBLE
9	REACCIÓN	REACCION	REACCION	INCOMPATIBLE
10	REACCIÓN	REACCION	REACCION	INCOMPATIBLE
11	NO REACCIÓN	NO REACCIÓN	NO REACCIÓN	COMPATIBLE
12	NO REACCIÓN	NO REACCIÓN	NO REACCIÓN	COMPATIBLE
13	NO REACCIÓN	NO REACCIÓN	NO REACCIÓN	COMPATIBLE

**VALORACIÓN DE ANTICUERPOS MEDIANTE COOMBS INDIRECTO**

ENSAYOS	PANTALLAS I	PANTALLAS II	PANTALLAS III	INTERPRETACIÓN
1	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
2	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
3	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
4	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
5	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
6	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
7	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
8	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
9	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
10	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
11	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
12	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
13	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
14	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
15	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO