



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO  
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
CARRERA DE LABORATORIO CLINICO E  
HISTOPATOLOGICO**

**TESINA DE GRADO PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL  
TÍTULO DE LICENCIADA EN CIENCIAS DE LA  
SALUD EN LABORATORIO CLÍNICO E  
HISTOPATOLÓGICO**

**TEMA:**

**IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS ABO,  
MEDIANTE EL ENSAYO DE TIPIFICACIÓN  
SANGUÍNEA, EN PREVENCIÓN DE  
INCOMPATIBILIDADES POR ADMINISTRACIÓN DE  
HEMOCOMPONENTES ISO GRUPOS CON LA  
UTILIZACIÓN DE MUESTRAS DE SANGRE DE  
USUARIOS ATENDIDOS EN EL SERVICIO DE  
MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HOSPITAL  
PROVINCIAL GENERAL DOCENTE DE RIOBAMBA,  
DURANTE EL PERÍODO OCTUBRE 2013 - MARZO  
2014**

**AUTORAS:**

**ANGÉLICA VANNESSA BUENAÑO LLERENA  
MARÍA MARLENE ALARCÓN ARÉVALO**

**TUTOR:**

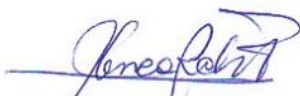
**LIC. FERNANDO JARAMILLO  
RIOBAMBA - ECUADOR  
OCTUBRE - 2014**


## HOJA DE APROBACIÓN

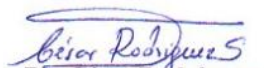
El tribunal de defensa privada conformada por la Lic. Ximena Robalino Presidente del tribunal, la Lic. Fernando Jaramillo miembro del tribunal y el Dr. César Rodríguez miembro del tribunal; certificamos que las señoritas **María Marlene Alarcón Arévalo** portadora de la cédula N° 060577712-7 y, **Angélica Vannessa Buenaño Llerena** portadora de la cédula N° 060463150-7, egresadas de la carrera de Laboratorio Clínico e Histopatológico de la Universidad Nacional de Chimborazo, se encuentran aptos para el ejercicio académico de la defensa pública de la tesina previa a la obtención del título de Licenciada en Ciencias de la Salud en Laboratorio Clínico e Histopatológico con el tema de investigación: **IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS ABO, MEDIANTE EL ENSAYO DE TIPIFICACIÓN SANGUÍNEA, EN PREVENCIÓN DE INCOMPATIBILIDADES POR ADMINISTRACIÓN DE HEMOCOMPONENTES ISO GRUPOS CON LA UTILIZACIÓN DE MUESTRAS DE SANGRE DE USUARIOS ATENDIDOS EN EL SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HOSPITAL PROVINCIAL GENERAL DOCENTE DE RIOBAMBA, DURANTE EL PERÍODO OCTUBRE 2013 - MARZO 2014.**

Una vez que han sido realizadas las revisiones periódicas y ediciones correspondientes a la tesina.

Riobamba, 25 de Julio de 2014.

  
Lic. Ximena Robalino  
Presidente del tribunal

  
Lic Fernando Jaramillo  
Miembro del tribunal

  
Dr. César Rodríguez  
Miembro del tribunal

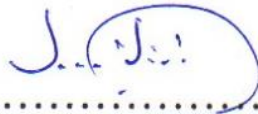
## **DERECHOS DE AUTORÍA**

Nosotras, Angélica Vannessa Buenaño Llerena y, María Marlene Alarcón Arévalo, declaramos ser responsables de las ideas, resultados y propuestas planteadas en este trabajo investigativo y que el patrimonio intelectual del mismo, pertenecen a la Universidad Nacional de Chimborazo.

## ACEPTACIÓN DEL TUTOR

Por la presente, dejo constancia de haber leído el protocolo del Proyecto de Grado presentado por las Srtas. Angélica Vannessa Buenaño Llerena y María Marlene Alarcón Arévalo para optar por el título de Licenciada en Ciencias de la Salud en Laboratorio Clínico e Histopatológico y que acepto asesor a las estudiantes, en calidad de tutor, durante la etapa de desarrollo del trabajo hasta su presentación y evaluación.

Riobamba, 30 de Octubre de 2013.



.....  
**Lic. Fernando Jaramillo**

## **DEDICATORIA**

El presente trabajo de investigación va dedicado a mis padres, quienes con mucho esfuerzo siempre me apoyaron para culminar mi carrera, a mis maestros(as) quienes me supieron transmitir sus conocimientos y en especial a Dios que me bendice cada día.

*Angélica*

## **DEDICATORIA**

El presente trabajo de investigación quiero dedicar primeramente a Dios por darme salud, vida, fortaleza y la sabiduría para culminar esta investigación.

A mi madre, por ser el pilar fundamental en mi vida que con su ejemplo, dedicación y palabras de aliento, nunca bajó los brazos para que yo tampoco lo haga; aún, cuando todo se complicaba, a ella dedico cada día de esfuerzo para lograr lo que hoy soy y ofrezco.

*Marlene*

## **AGRADECIMIENTO**

Mediante el presente trabajo, quiero expresar mis agradecimientos a todas aquellas personas que confiaron y colaboraron para la elaboración de esta investigación, en especial a mis padres.

*Angélica*

## **AGRADECIMIENTO**

Primeramente me gustaría agradecerle a ti Dios por bendecirme para llegar hasta donde he llegado, porque hiciste realidad este sueño anhelado.

A la Universidad Nacional de Chimborazo por darme la oportunidad de estudiar y ser una profesional.

A mi tutor el Lic. Fernando Jaramillo por su esfuerzo y dedicación y a todos mis profesores que durante toda mi carrera han aportado con sus conocimientos.

*Marlene*

## RESUMEN

El conocimiento científico de los grupos sanguíneos, constituye un gran avance hacia la explicación de los mecanismos de algunas enfermedades hereditarias y a la explicación de maternidades dudosas, pero por sobre todas las cosas, es una conquista terapéutica que posibilita la transfusión de sangre entera sin riesgos. La presente investigación planteó identificar los anticuerpos ABO, mediante el ensayo de tipificación sanguínea, en prevención de incompatibilidades por administración de hemocomponentes iso grupos con la utilización de muestras de sangre de usuarios atendidos en el servicio de medicina transfusional del Hospital Provincial General Docente de Riobamba, durante el período Octubre 2013 - Marzo 2014. La investigación fue del tipo descriptiva, explicativa, con un diseño documental, de campo y transversal. La población estuvo constituida por 177 pacientes a quienes se les realizó 1488 ensayos durante el tiempo planteado en la investigación. Los registros de los hemoderivados fueron 2158, de estos 851 fueron hemoderivados hemáticos a los que se direccionaron nuestra investigación debido a que estos componentes sanguíneos contienen antígenos que forman parte estructural de la membrana de los glóbulos rojos, mismos que se estudiaron en el suero o plasma del paciente. Las pruebas antiglobulínicas detectaron la presencia de anticuerpos anti-globulínicos en los ensayos ABO, y su utilidad fue limitada debido a que los reportes denotan negatividad, pudiendo provocar en los pacientes reacciones hemolíticas. La utilización de concentrado de glóbulos rojos leucorreducidos, se justifica por diversas patologías que reducen a reacciones transfusionales, sin embargo su utilización, es adecuada cuando se requiere como alternativa transfusional en prevención de reacción hemolítica. Las pruebas de tipificación sanguíneas deben validar sus resultados con la realización de pruebas directas o inversas, con la finalidad de confirmar o descartar a los anticuerpos inespecíficos del sistema ABO. Los anticuerpos inespecíficos del sistema ABO fueron detectados con la prueba inversa, siempre y cuando las células utilizadas sean de epítipo A1, A2, B y O.



# UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CENTRO DE IDIOMAS

---

## ABSTRACT

Scientific knowledge of blood groups is a major step towards the mechanism's explanation of some hereditary diseases and maternity dubious explanation, but above all things, is a therapeutic conquest that allows whole blood transfusion safe. This research suggested identifying ABO antibodies by testing blood typing, prevention by administration of blood components incompatibilities iso groups with the use of blood samples of users treated at the "Hospital Provincial General Docente de Riobamba", transfusion medicine service during the period October 2013 - March 2014 research was descriptive, explanatory, with a documentary design, field and transversal. The population consisted of 177 patients who underwent 1488 trials during the time set in the research. The records of the blood were 2158, 851 these were hematological blood to which our research conducted because these blood components contain antigens that are structural part of the membrane of red cells, we studied them in serum or plasma patient. The antiglobulinic tests detected the presence of anti-ABO antibodies in globulin trials, and its usefulness was limited because reports denote negativity and can cause reactions in patients hemolytic. The use of leuko reduced red cell concentrate is justified by various pathologies that reduce transfusion reactions; however its use is appropriate when required as an alternative transfusion in preventing hemolytic reaction. Blood typing tests should validate their results with the realization of direct or reverse, in order to confirm or rule out the nonspecific antibody ABO testing. The ABO nonspecific antibodies were detected with the inverse test, provided that the cells used are epitope A1, A2, B and O.

Reviewed by. Sonia Marcela Suarez Cabrera  
English teacher  
September, 10<sup>th</sup>, 2014





## ÍNDICE GENERAL

Portada.....	i
Hoja de aprobación.....	ii
Derechos de autoría.....	iii
Aceptación del tutor.....	iv
Dedicatoria.....	v
Agradecimiento.....	vi
Resumen.....	vii
Abstract.....	viii
Índice general.....	ix
Índice de cuadros.....	xviii
Índice de figuras.....	xviii
Índice de gráficos.....	xx
Índice de tablas.....	xxi
Introducción.....	1

## **CAPÍTULO I**

1.	PROBLEMATIZACIÓN.....	3
1.1.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
1.2.	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	4
1.3.	OBJETIVOS.....	4
1.3.1.	Objetivo general.....	4
1.3.2.	Objetivos específicos.....	4
1.4.	JUSTIFICACIÓN.....	5

## **CAPÍTULO II**

2.	MARCO TEÓRICO.....	7
2.1.	POSICIONAMIENTO PERSONAL.....	7
2.2.	FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	7
2.2.1.	Sistema de grupo sanguíneo.....	8
2.2.1.1.	Sistema ABO.....	8
2.2.1.2.	Antígenos del sistema ABO.....	8
2.2.1.3.	Síntesis de los antígenos ABH.....	9
2.2.1.4.	Subgrupos del sistema ABO.....	10
2.2.1.5.	Antígeno H.....	11
2.2.2.	Anticuerpos del sistema ABO.....	11
2.2.3.	Anticuerpos Anti-A1.....	12

2.2.4.	Antígenos y anticuerpos.....	13
2.2.4.1.	Antígenos.....	13
2.2.5.	Antígenos exógenos.....	14
2.2.6.	Antígenos endógenos.....	15
2.2.7.	Autoantígenos.....	15
2.2.8.	Antígenos tumorales.....	16
2.2.9.	Antígenos nativos.....	17
2.2.10.	Antígenos (Estructura, función, propiedades, clasificación).....	17
2.2.10.1.	Epítomos.....	17
2.2.10.2.	Haptenos.....	18
2.2.10.3.	Funciones de los antígenos.....	19
2.2.10.4.	Tolerógeno.....	19
2.2.10.5.	Alérgeno.....	19
2.2.11.	Propiedades generales de los antígenos.....	20
2.2.12.	Propiedades físicas de los antígenos.....	20
2.2.13.	Propiedades químicas de los antígenos.....	21
2.2.13.1.	ABH.....	21
2.2.13.2.	Lewis.....	22
2.2.13.3.	Antígeno P.....	22
2.2.13.4.	Antígenos li.....	22

2.2.14. Anticuerpos.....	24
2.2.14.1.Estructura, función, propiedades, clasificación.....	25
2.2.15. Estructura de las cadenas livianas.....	28
2.2.16. Estructura de las cadenas pesadas.....	29
2.2.17. Funciones de los anticuerpos.....	31
2.2.18. Tipos de los anticuerpos.....	31
2.2.19. La IgA.....	32
2.2.20. La IgM.....	33
2.2.21. La IgD.....	34
2.2.22. La IgE.....	35
2.2.23. Reacción antígeno – anticuerpo.....	35
2.2.24. Primera etapa de la reacción de aglutinación.....	37
2.2.25. Factores que afectan a la reacción antígeno anticuerpo.....	37
2.2.25.1.Concentración de antígeno y anticuerpo.....	37
2.2.25.2.pH.....	38
2.2.25.3.Temperatura.....	38
2.2.25.4.Fuerza iónica.....	38
2.2.26. Características físicas que favorecen a reacción antígeno anticuerpo.....	38
2.2.26.1.Especificidad.....	38

2.2.26.2.Rapidez.....	39
2.2.26.3.Espontaneidad.....	39
2.2.27. Características químicas que favorecen la reacción	
antígeno anticuerpo.....	39
2.2.27.1.Neutralización.....	39
2.2.27.2.Precipitación.....	39
2.2.27.3.Aglutinación.....	40
2.2.27.4.Opsonización.....	40
2.2.28. Medios de reacción.....	40
2.2.28.1.Medios salinos.....	40
2.2.28.2.Medios proteicos.....	40
2.2.29. Solución de baja fuerza iónica.....	41
2.2.30. Sangre total.....	42
2.2.30.1.Indicaciones.....	43
2.2.31. Hemoderivados que se ofertan en la terapia transfusional.....	43
2.2.32. Concentrado de eritrocitos (CGR).....	44
2.2.33. Concentrado de eritrocitos (CE) lavados.....	46
2.2.34. Concentrado de plaquetas (CP).....	47
2.2.35. Plasma fresco congelado (PFC).....	48
2.2.35.1.Púrpura trombótica trombocitopénica.....	48

2.2.35.2. Trasplante hepático.....	49
2.2.36. Reacciones transfusionales.....	50
2.2.36.1. Reacciones transfusionales inmediatas.....	50
2.2.36.2. Presentación clínica.....	50
2.2.36.3. Diagnóstico.....	50
2.2.36.4. Tratamiento.....	51
2.2.37. Reacciones transfusionales tardías.....	51
2.2.37.1. Diagnóstico.....	51
2.2.37.2. Tratamiento y prevención.....	51
2.2.38. Reacción transfusional febril no hemolítica.....	52
2.2.38.1. Diagnóstico.....	52
2.2.38.2. Tratamiento y prevención.....	52
2.2.39. Reacciones transfusional anafiláctica.....	52
2.2.40. Técnica para la identificación del grupo sanguíneo ABO.....	53
2.2.40.1. Fundamento.....	53
2.2.40.2. Almacenamiento y estabilidad.....	53
2.2.41. Reactivos para la tipificación de anticuerpos.....	54
2.2.42. Técnicas para la identificación de antígenos ABO.....	55
2.2.42.1. Determinación ABO.....	55
2.2.42.2. Técnicas para la identificación de anticuerpos ABO.....	56

2.2.42.3.Prueba sérica inversa o reversa.....	56
2.2.43. Discrepancia de resultados directos e inversos.....	57
2.2.43.1.Pruebas globulares adicionales.....	57
2.2.43.2.Pruebas séricas adicionales.....	58
2.2.43.3.Limitaciones.....	58
2.2.44. Relación de la identificación de aloanticuerpos con la reacción transfusional.....	59
2.2.45. Control de calidad en el laboratorio de inmunohematología.....	59
2.2.45.1.Errores de origen técnico.....	60
2.2.45.2.La calidad de los reactivos.....	61
2.2.45.3.La calidad de las técnicas.....	61
2.2.45.4.La calidad de los instrumentos.....	62
2.2.45.5.Control de la calidad de los reactivos. Solución de baja fuerza iónica (LISS).....	62
2.2.45.6.Control de la calidad de los reactivos. Hematíes.....	62
2.2.45.7.Control de calidad de los reactivos sueros ABO.....	63
2.2.45.8.Control de calidad de los reactivos. Sueros RH.....	64
2.2.45.9.Control de calidad de los reactivos. Suero antiglobulina humana (polivalente).....	64

2.3.	DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS.....	65
2.4.	HIPÓTESIS Y VARIABLES.....	68
2.4.1.	Hipótesis.....	68
2.4.2.	Variables.....	69
2.4.2.1.	Variable independiente.....	69
2.4.2.2.	Variable dependiente.....	69
2.5.	OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES.....	69
2.5.1.	Comprobación de la hipótesis.....	70

### **CAPÍTULO III**

3.	MARCO METODOLÓGICO.....	71
3.1.	MÉTODOS.....	71
3.1.1.	Tipo de investigación.....	71
3.1.2.	Diseño de investigación.....	72
3.1.3.	Tipo de estudio.....	72
3.2.	POBLACIÓN Y MUESTRA.....	72
3.2.1.	Población.....	72
3.2.2.	Muestra.....	72
3.3.	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS	73



3.4.	TÉCNICAS PARA EL ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.....	73
------	--	----

## **CAPÍTULO IV**

4.	ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.....	74
----	--	----

## **CAPÍTULO V**

5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	81
----	-------------------------------------	----

5.1.	CONCLUSIONES.....	81
------	-------------------	----

5.2.	RECOMENDACIONES.....	81
------	----------------------	----

	BIBLIOGRAFÍA.....	82
--	-------------------	----

	SITIOS WEB.....	83
--	-----------------	----

	ANEXOS.....	84
--	-------------	----

	FOTOGRAFÍAS DE LA INVESTIGACIÓN.....	84
--	--------------------------------------	----

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1: Antígenos del sistema ABO.....	9
Figura N° 2: El antígeno es una sustancia que causa una respuesta inmunitaria cuando desencadena anticuerpos pues interactúan por complementariedad espacial.....	14
Figura N° 3: Los antígenos son sustancias activadas de diversas maneras en el cuerpo humano que forman anticuerpos y activan el sistema inmune.....	15
Figura N° 4: Inmunidad humoral.....	16
Figura N° 5: El antígeno en su forma nativa reacciona directamente con las inmunoglobulinas.....	17
Figura N° 6: Medio de unión entre un Ag (Epítotope) y un Ac (Paratopo)..	18
Figura N° 7: Presencia o ausencia de estos antígenos. Hay cuatro tipos A, B, AB, O.....	19
Figura N° 8: Anticuerpo.....	24
Figura N° 9: Estructura de anticuerpo.....	26
Figura N° 10: Estructura de anticuerpo que posee también la región variable.....	27

Figura N° 11: Cadenas ligeras y pesadas divididas en dominios.....	29
Figura N° 12: Estructura de inmunoglobulina IgG.....	32
Figura N° 13: Estructura de inmunoglobulina IgA.....	33
Figura N° 14: Estructura de inmunoglobulina IgM.....	34
Figura N° 15: Estructura de inmunoglobulina IgD.....	34
Figura N° 16: Estructura de inmunoglobulina IgE.....	35
Figura N° 17: Reacción antígeno anticuerpo.....	36
Figura N° 18: Reactivo de albumina bovina es un potenciador.....	41
Figura N° 19: Reactivo de baja fuerza iónica (LISS).....	42
Figura N° 20: Bolsa recolectora de sangre total.....	43
Figura N° 21: Concentrado glóbulos rojos, plasma fresco congelado, plaquetas.....	49
Figura N° 22: Reactivos para tipificación sanguínea.....	53
Figura N° 23: Reactivos para tipificación de anticuerpos.....	54

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico N° 1: Registro de transfusiones Octubre 2013 - Marzo 2014.....	74
Gráfico N° 2: Registro de resultados de la tipificación sanguínea a pacientes grupos A, B y AB.....	76
Gráfico N° 3: Identificación de anticuerpos inespecíficos mediante la tipificación sanguínea inversa.....	77
Gráfico N° 4: Valoración de los resultados de pruebas de Coombs a muestras de pacientes con reporte de anticuerpos inespecíficos del sistema ABO.....	79
Gráfico N° 5: Demostración de la reacción in vitro por incompatibilidades de anticuerpos ABO.....	80

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1:	Registro de transfusiones Octubre 2013 - Marzo 2014.....	74
Tabla N° 2:	Registro de resultados de la tipificación sanguínea a pacientes grupos A, B y AB.....	75
Tabla N° 3:	Identificación de anticuerpos inespecíficos mediante la tipificación sanguínea inversa.....	77
Tabla N° 4:	Valoración de los resultados de pruebas de Coombs a muestras de pacientes con reporte de anticuerpos inespecíficos del sistema ABO.....	78
Tabla N° 5:	Demostración de la reacción in vitro por incompatibilidades de anticuerpos ABO.....	79

## INTRODUCCIÓN

Los grupos sanguíneos son una forma de clasificar la sangre, dependiendo de ciertas características que posee, éstas dependen de los antígenos que los glóbulos rojos presentan en su superficie y en el suero de la sangre.

Las dos clasificaciones más importantes para describir grupos sanguíneos en humanos son los antígenos ABO y el factor Rh, las transfusiones de sangre entre grupos incompatibles pueden provocar una reacción inmunológica que puede desembocar en hemólisis, anemia, fallo renal, shock, o muerte.

El austriaco Karl Landsteiner designó los grupos sanguíneos a principios del siglo XX. Después fue premiado con el Premio Nobel de Fisiología o Medicina en 1930 por sus trabajos en la caracterización de los tipos sanguíneos ABO.

La era fisiológica de la historia de la transfusión sanguínea, comenzó con el descubrimiento de la circulación de la sangre por Harvey en 1616, los primeros experimentos fueron hechos con transfusiones homologas entre animales y en 1667 se efectuó la primera transfusión en un humano al cual se le inyectaron 9 onzas de sangre de carnero.

Después de los primeros accidentes y del descrédito del procedimiento, hubo un receso de casi 150 años en que no hubo avance en la transfusión de sangre, en 1818 James Blundell Obstetra y Fisiólogo Inglés hizo la primera transfusión de hombre a hombre y para 1875 ya se habían hecho unas 350 transfusiones en humanos.

En 1899 Shattock informó sobre la aglutinación de eritrocitos de algunas personas con el suero de otras, e interpretó este fenómeno como anormal, fue Karl Landsteiner quién descubrió las diferencias de la sangre entre grupos de personas y con su teoría sobre la especificidad de las reacciones serológicas (1900) dio inicio a la era inmunológica de la historia de la transfusión sanguínea.

Landsteiner en 1900 descubrió que los glóbulos rojos pueden clasificarse en A, B y O, de acuerdo a la presencia o ausencia de antígenos reactivos en la superficie de los glóbulos rojos.

Dichos antígenos son de mucha importancia en la transfusión sanguínea, trasplante de tejidos y enfermedad hemolítica del recién nacido.

La compatibilidad de grupo ABO es esencial en toda prueba serológica pre-transfusional.

En el sistema ABO, característicamente el plasma contiene anticuerpos que reaccionan contra el antígeno ausente en sus glóbulos rojos, estos anticuerpos completos han sido llamados de "ocurrencia natural" o alo - anticuerpos pues se creía que no eran de origen inmune, su identificación se la hace a través de la prueba inversa de grupo sanguíneo, utilizando células con antígenos conocidos, que identificarán al anticuerpo presente, esta evaluación es de suma importancia para la proyección de la prueba de compatibilidad, así se descarta anticuerpos presentes en el paciente que podrían ocasionar reacción con las unidades transfundidas.

# CAPÍTULO I

## 6. PROBLEMATIZACIÓN.

### 6.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

El conocimiento científico de los grupos sanguíneos, constituyó un gran avance hacia la dilucidación del mecanismo de algunas enfermedades hereditarias y esclarecimiento de maternidades dudosas, pero por sobre todas las cosas, fue una conquista terapéutica que posibilitó la transfusión de sangre entera sin riesgos. La cantidad de sangre que un organismo puede perder sin que peligre la vida depende de la velocidad de la hemorragia; lentamente se resisten pérdidas de hasta el 30 – 40 % de la volemia, pero en las hemorragias rápidas esta cifra se reduce al 20 %.

En los bancos de sangre se extrae aproximadamente un 10 % de la volemia, esta extracción, permite, obtener mediante técnicas de separación, fraccionados de la sangre, para ser utilizados, en la hemoterapia, su composición antigénica y anticuerpo, es evaluado, antes de ser entregados y administrados a un paciente determinado.

La compatibilidad sanguínea, se evalúa mediante la aplicación de las pruebas cruzadas, para ello se parte de la realización de la prueba de Hemoclasificación o tipificación sanguínea, para reconocer la presencia o ausencia de los antígenos y anticuerpos.

Son los anticuerpos los elementos causantes de la incompatibilidad, para ello necesita del antígeno, al anticuerpo se lo estudia la tipificación inversa, para reconocer a este elemento natural, que pertenece al sistema ABO, los anticuerpos procedentes de un estímulo se los hace, mediante las pruebas de Coombs. La composición antigénica del sistema ABO, permite clasificar a los antígenos en subgrupos, los mismos que pueden reaccionar con los anticuerpos naturales.



Por ello la prueba inversa permite diferenciar el tipo de anticuerpo que no fue generado por la carga antigénica y que permite ser parte de la composición de grupo sanguíneo o de la no alteración inmunológica en una transfusión de fraccionados hemáticos.

## 6.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.

¿Se puede identificar los anticuerpos ABO, mediante el ensayo de tipificación sanguínea inversa, en prevención de incompatibilidades por administración de hemocomponentes iso grupos con la utilización de muestras de sangre de usuarios atendidos en el servicio de medicina transfusional del Hospital Provincial General Docente de Riobamba, durante el período Octubre 2013 - Marzo 2014?

## 6.3. OBJETIVOS.

### 6.3.1. **Objetivo general.**

- Analizar los anticuerpos ABO, mediante el ensayo de la tipificación sanguínea, para apoyar a la prevención de incompatibilidades al administrar hemocomponentes iso grupos.

### 6.3.2. **Objetivos específicos.**

- Registrar el número de hemoderivados plasmáticos y hemáticos transfundidos para relacionarlo a las compatibilidades por transfusiones iso grupos.
- Identificar la estructura antígeno-anticuerpo de las muestras de sangre en estudio, mediante la prueba de tipificación sanguínea directa e inversa para relacionarlo con la presencia de anticuerpos inespecíficos del sistema ABO.
- Validar los ensayos que reportan la presencia de anticuerpos inespecíficos ABO mediante la realización de la prueba de Coombs directo, para correlacionarlos con las inmunoglobulinas causantes de las reacciones hemolíticas.

#### 6.4. JUSTIFICACIÓN.

El conocimiento de los grupos sanguíneos ha sido de gran importancia no sólo en genética humana y de la fisiopatología de determinadas anemias hemolíticas producidas por anticuerpos dirigidos contra ciertos antígenos eritrocitarios, de enorme importancia ha sido el conocimiento de la sensibilización feto-materna para la profilaxis de la anemia hemolítica del recién nacido o eritroblastosis fetal.

Las bases de la medicina transfusional actual radican en el conocimiento y desarrollo de la inmunología, la genética y los grupos sanguíneos, la Inmunología es la ciencia biológica que estudia todos los mecanismos fisiológicos de defensa de la integridad biológica del organismo. Dichos mecanismos consisten esencialmente en la identificación de lo extraño y su destrucción.

El sistema ABO es el primer sistema de grupo sanguíneo humano descubierto, los cuatro grupos sanguíneos de este sistema son: AB, A, B y O, están determinados por la presencia o no de dos antígenos, denominados A y B en la membrana del eritrocito.

Los eritrocitos transportan una rica variedad de antígenos individuales, algunos de ellos, aunque altamente inmunógenos, son tan frecuentes o tan raros, escasamente están involucrados en reacciones adversas, aunque pueden ser responsables de la inmuno acción sobre un feto o contra células transfundidas.

Las reacciones severas por transfusiones habitualmente se deben a incompatibilidad para los antígenos del sistema ABO. Estos antígenos son oligosacáridos y están codificados genéticamente por genes situados en locus separados.

La transfusión sanguínea es actualmente una terapia muy segura, debido a las medidas en la selección de donantes, métodos de procesamiento e indicaciones estrictas a pacientes.

No obstante, por su naturaleza de producto humano y posibilidad transmisión de enfermedades, no está exenta de efectos secundarios, algunos están asociados al tipo de componente sanguíneo y otros son específicos del estado del receptor

La evaluación de los anticuerpos que componen a los hemoderivados y al paciente, es de crucial importancia para prevenir o identificar el agente causal de una reacción transfusional; tomando en cuenta que los grupos sanguíneos A y AB pueden mutar en su estructura bioquímica y generar subgrupos que a su vez generaran sub anticuerpos en el organismo del paciente transfundido estos componentes.

## **CAPÍTULO II**

### **7. MARCO TEÓRICO.**

#### **7.1. POSICIONAMIENTO PERSONAL.**

Partiendo de los principios del pragmatismo (relación teórica y práctica) esta investigación condujo en llevar el conocimiento analítico de las pruebas de compatibilidad y validación en los servicios de medicina transfusional de los bancos de sangre para que mediante la determinación de anticuerpos ABO evitemos incompatibilidades transfusionales o sensibilización en los pacientes que se administran hemocomponentes iso grupos, para alcanzar los objetivos finales de este proceso investigativo.

#### **7.2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.**

El descubrimiento del grupo sanguíneo ABO por el científico Karl Landsteiner, causó gran entusiasmo en la comunidad científica de la época. Hasta entonces, toda la sangre se consideraba igual en todas las personas, y no se entenderían las consecuencias a menudo trágicas de las transfusiones de sangre. Con los descubrimientos realizados en el grupo sanguíneo ABO, no sólo la transfusión de sangre en el mundo se hizo más segura, sino que permitió el estudio de una de las primeras características hereditarias humanas descubiertas más importantes en medicina. El grupo sanguíneo ABO ha sido también utilizado para la confirmación de pruebas de compatibilidad, para el estudio de las víctimas en medicina forense, y por los antropólogos en el estudio de diversas poblaciones. Los antígenos de grupo sanguíneo ABO son de gran importancia en medicina transfusional; son los más inmunogénicos de todos los antígenos de los grupos sanguíneos, convirtiendo la transfusión de sangre ABO incompatible en la causa más común de muerte por este procedimiento.

A pesar de su importancia clínica, las funciones fisiológicas de los antígenos del grupo sanguíneo ABO siguen siendo un misterio. Se han realizado numerosas asociaciones entre algunos fenotipos ABO y una mayor susceptibilidad a determinadas enfermedades; por ejemplo el grupo sanguíneo O se ha asociado con mayor riesgo de desarrollar úlcera gástrica, en tanto que el grupo sanguíneo A se ha asociado con mayor riesgo al cáncer gástrico.

### 7.2.1. Sistema de grupo sanguíneo.

#### 7.2.1.1. *Sistema ABO.*

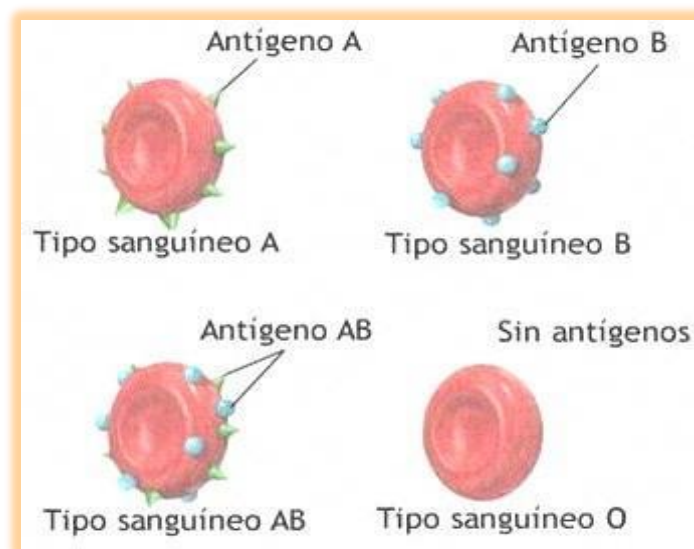
El sistema de grupo sanguíneo ABO, descubierto hace más de 100 años por Karl Landsteiner, es uno de los sistemas más importantes en medicina transfusional. Está compuesto por los antígenos A, los antígenos B, y los correspondientes anticuerpos contra estos antígenos. Opuesto a lo que sucede en otros sistemas, como por ejemplo el Rh, en este sistema la presencia de anticuerpos naturales contra los antígenos A y B en personas que no expresan estos antígenos (ley de Landsteiner) causa reacciones adversas, ocasionalmente fatales, luego de la primera transfusión de sangre incompatible. El concepto de que “solo la sangre del donante compatible que no produce aglutinación de los eritrocitos, puede ser transfundida”, prepara el camino para una transfusión de sangre segura.

#### 7.2.1.2. *Antígenos del sistema ABO.*

Los antígenos del sistema ABO se detectan sobre los eritrocitos entre la quinta y sexta semana del embrión y no se desarrollan completamente hasta después del nacimiento. Esta podría ser una razón para que la enfermedad hemolítica del feto y del recién nacido por incompatibilidad ABO, sea usualmente leve. Durante el crecimiento, se van adicionando los azúcares terminales sobre la cadena de oligosacáridos en la membrana de los eritrocitos, dando origen a cada uno de los antígenos de forma específica. Entre los 2 y 4 años de edad, los antígenos A y B están completamente desarrollados y permanecen constantes durante toda la vida.

Los antígenos del sistema ABO están compuestos por azúcares que protruyen de la membrana de la superficie de los eritrocitos, unidos a un componente denominado ceramida, el cual se encuentra en la membrana de los eritrocitos. Una serie de cuatro azúcares se une a la ceramida. A esta estructura de cuatro azúcares o sustancia precursora, se le unen otros azúcares que le dan la especificidad a cada antígeno ABO. Por ejemplo, fucosa y D-galactosa unidas al azúcar terminal de la sustancia precursora, da la especificidad del grupo sanguíneo B.

**Figura N° 1: Antígenos del Sistema ABO.**



Fuente: (El blog del biólogo, 2011)

#### 7.2.1.3. Síntesis de los antígenos ABH.

La biosíntesis de los antígenos del sistema ABH ocurre por la adición secuencial de residuos de azúcares específicos a una sustancia precursora común para todos ellos. La transferencia de estos residuos de azúcares a la sustancia precursora se da por la acción de enzimas denominadas glicosil-transferasas. Estas enzimas son el producto directo de los genes ABO respectivos colocados en el cromosoma N° 9. El gen H está en el cromosoma N° 19.

Las transferasas responsables de la síntesis de los antígenos ABH son:

- L-fucosil-transferasa: codificada por el gen H y que cataliza la transferencia de la L-fucosa a la molécula de D-galactosa de la sustancia precursora, formando la sustancia o antígeno H presentes en los hematíes O. el antígeno H se constituye el precursor de los antígenos A y B en caso que existan los genes respectivos.
- N-acetilgalactosaminil-transferasa: producida por la acción del gen A, esta enzima transfiere una molécula de N-cetilgalactosamina a la D-galactosa terminal de la sustancia H formando el antígeno A.
- D-galactosil-transferasa: codificada por el gen B y que liga D-galactosa a la sustancia H formando el antígeno B.

Por su parte el gen H (H/H o H/h) tiene una incidencia muy alta en la población, como se sabe este gen induce la síntesis de L-fucosil-transferasa responsable de la formación de la sustancia H a partir de la sustancia precursora.

#### 7.2.1.4. *Subgrupos del sistema ABO.*

Los subtipos del grupo sanguíneo ABO se denominan subgrupos y/o variantes. Los subgrupos de ABO se diferencian por las cantidades de antígenos A, B, u O (H) sobre los eritrocitos. Los más comunes son los subgrupos de A y B, y de estos dos, son más comunes los subgrupos de A.

Los dos principales subgrupos de A son A<sub>1</sub> y A<sub>2</sub>. Los subgrupos son clasificados por la cantidad de antígeno A, y esta cantidad disminuye en el orden A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>3</sub>, A<sub>x</sub>, A<sub>end</sub>, A<sub>m</sub>, A<sub>el</sub>. Los subgrupos varían también en las diferentes poblaciones; por ejemplo, en los europeos aproximadamente el 80 % de las personas del grupo sanguíneo A y AB poseen el subgrupo A<sub>1</sub> y el restante 20 % el A<sub>2</sub> o A<sub>2</sub>B.

Entre los subgrupos A<sub>1</sub> y A<sub>2</sub> hay diferencias cualitativas y cuantitativas. La transferasa A<sub>1</sub> es más eficiente que la transferasa A<sub>2</sub> en convertir la sustancia H al antígeno A.

Aproximadamente el 80 % de las personas de grupo sanguíneo A o grupo AB tienen eritrocitos que son aglutinados por anti-A<sub>1</sub>, por lo tanto son clasificadas como A<sub>1</sub> o A<sub>1</sub>B, el restante 20% cuyas células son aglutinadas por anti-A pero no por anti-A<sub>1</sub>, son A<sub>2</sub> o A<sub>2</sub>B. Las pruebas con anti-A<sub>1</sub> son innecesarias de rutina para donantes o receptores.

Los subgrupos se reconocen más frecuentemente cuando existe una discrepancia entre la prueba globular (directa) y la sérica (inversa). Los estudios moleculares han confirmado que los subgrupos de A y B son heterogéneos, y la clasificación serológica no se correlaciona consistentemente con el análisis genómico: múltiples alelos presentan el mismo fenotipo débil, y en algunos casos, más de un fenotipo tiene el mismo alelo.

#### 7.2.1.5. *Antígeno H.*

El antígeno H se encuentra sobre la membrana de los eritrocitos, excepto en las personas de fenotipo O<sub>h</sub> (fenotipo Bombay). Como H es un precursor de A y B, las personas de los grupos sanguíneos A, B y AB tienen menos H que las personas O. El orden de reactividad de anti-H con eritrocitos de diferentes grupos sanguíneos es O > A<sub>2</sub> > A<sub>2</sub>B > B > A<sub>1</sub> > A<sub>1</sub>B. (Cortez, 2010).

#### 7.2.2. *Anticuerpos del sistema ABO.*

Los anticuerpos anti-A y anti-B pueden ser detectables en los niños entre los 3 y 6 meses de vida, luego del nacimiento. La mayoría de los anticuerpos anti-A y anti-B presentes en el cordón umbilical son de origen materno, adquiridos por la transferencia placentaria de IgG materna; por lo tanto, los anticuerpos anti-A y anti-B en el suero de recién nacidos o niños menores de 6 meses, no se consideran válidos. La producción de anticuerpos se incrementa, alcanzando el nivel de los adultos entre los 5 y 10 años de edad, y disminuyen posteriormente en adultos de edad avanzada. Las personas ancianas tienen niveles menores de anti-A y anti-B que los adultos jóvenes.



### 7.2.3. Anticuerpos Anti-A<sub>1</sub>.

Los anticuerpos anti-A<sub>1</sub> se presentan en el suero como un aloanticuerpo entre el 1% y el 2% de las personas A<sub>2</sub> y en el 25% de las personas A<sub>2</sub>B. Algunas veces también se pueden encontrar anticuerpos anti-A<sub>1</sub> en el suero de personas con otros subgrupos débiles de A. Los anticuerpos anti-A<sub>1</sub> pueden causar discrepancias en las pruebas ABO e incompatibilidad en las pruebas cruzadas con eritrocitos A<sub>1</sub> o A<sub>1</sub>B.

Los anticuerpos anti-A<sub>1</sub> usualmente reaccionan mejor o sólo a temperaturas por debajo de 37 °C y se consideran clínicamente insignificantes a menos que sean reactivos a 37 °C. Cuando son reactivos a 37 °C, sólo se deben usar unidades de eritrocitos O o A<sub>2</sub> en caso de necesitarse una transfusión. (Genomasur, 2009)

Son preparados a partir de una unidad de sangre total tras la extracción de unos 200 a 250 ml del plasma. También se puede obtener por procedimiento de aféresis. Los concentrados de glóbulos rojos pueden ser des leucocitados a través de filtros de leucocitos o des plasmalizados por la técnica de lavado de solución salina. La práctica de adicionar antes de comenzar la infusión de concentrado de glóbulos rojos de 600-100 cc de suero salino al 0,9 % en aquellos casos que se quiera lograr una infusión rápida no es recomendable teniendo en cuenta que implica más riesgos.

*Volumen aproximadamente 300 ml almacenamiento es de 2-6 °C.*

Su principal indicación es el tratamiento de la anemia aguda y crónica en pacientes que únicamente necesitan un aumento de la capacidad de transporte de oxígeno y de la masa celular.

La dosis depende de la clínica del paciente en ausencia de hemorragia o hemolisis, en el adulto una unidad de CGR eleva la concentración media de Hemoglobina en 1 g/dl y Hematocrito es en un 3 %. La necesidad de transfusión de este componente varía de un individuo a otro y según las circunstancias clínicas. (Salazar, 2010)

*La fórmula para el volumen a transfundirse: 14ml x Kg/peso.*

**Ventajas:** Reponer la volemia con soluciones cristaloides y coloides. Una vez restablecida la volemia y controlada la hemorragia las cifras de la hemoglobina entre 7-9 g/dl son suficientes para mantener a un adulto con buena oxigenación hística y solamente se transfundirá si existen síntomas de hipoxia tisular.

**Desventajas:** Cuando haya riesgo de isquemia cerebral o miocárdica aun estando el enfermo asintomático puede ser recomendable alcanzar una cifra entre 9-10 g/dl.

#### 7.2.4. Antígenos y anticuerpos.

##### 7.2.4.1. Antígenos.

Un antígeno ("anti", del griego αντι- que significa 'opuesto' o 'con propiedades contrarias' y "geno", de la raíz griega γεν, generar, producir; que genera o crea oposición) es una sustancia que desencadena la formación de anticuerpos y puede causar una respuesta inmunitaria. La definición moderna abarca todas las sustancias que pueden ser reconocidas por el sistema inmune adaptativo, bien sean propias o ajenas.

Se denomina antígeno a toda sustancia que introducida en un individuo desencadena una respuesta inmune. Todos los microorganismos, virus, bacterias, parásitos y hongos, generan respuestas inmunes, por lo que en el sentido más amplio todos se comportan como antígenos. Para desencadenar una respuesta inmune el antígeno debe ser reconocido por un receptor linfocitario, en la superficie de un linfocito B o en la de un linfocito T.

Es una molécula capaz de producir una respuesta del sistema inmune adaptativo mediante la activación de linfocitos, sustancia que desencadena la formación de anticuerpos y puede causar una respuesta inmune.

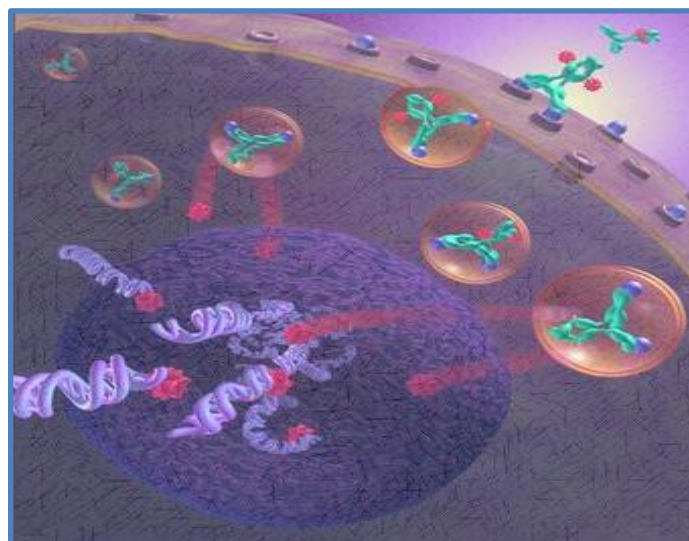
Esta definición amplía el concepto de antígeno más allá del concepto clásico que definía antígeno como la sustancia que desencadena la producción de anticuerpos.

Así dentro de esta definición de antígeno se incluyen las moléculas que, previa presentación antigénica, son capaces de desencadenar la activación de células T citotóxicas capaces de destruir las células diana sin la participación de anticuerpos.

#### 7.2.5. Antígenos exógenos.

Los antígenos exógenos son antígenos que han entrado al cuerpo desde el exterior, por ejemplo mediante inhalación, ingestión o inyección. Estos antígenos son tomados en las células presentadoras de antígenos mediante endocitosis o fagocitosis, (CPAs) y procesados en fragmentos. Las células presentadoras de los antígenos presentarán esos fragmentos a linfocitos T colaboradores ( $CD4^+$ ) con ayuda de moléculas de histocompatibilidad de clase II en su superficie. Algunos linfocitos T pueden reconocer de manera específica la dupla péptido. Es entonces cuando son activados y comenzarán a secretar citoquinas. Las citoquinas son sustancias que a su vez pueden activar linfocitos T citotóxicos ( $CD8^+$ ), células productoras de anticuerpos o linfocitos B, macrófagos, y otras partículas.

**Figura N° 2: El antígeno es una sustancia que causa una respuesta inmunitaria cuando desencadena anticuerpos pues interactúan por complementariedad espacial.**



Fuente: (inmunologiaudes, 2011)

### 7.2.6. Antígenos endógenos.

Los antígenos endógenos son aquellos antígenos que han sido generados al interior de una célula, como resultado del metabolismo celular normal, o debido a infecciones virales o bacterianas intracelulares. Los fragmentos de esos antígenos son presentados sobre la superficie celular en un complejo con moléculas MHC de clase I. Si son reconocidos por linfocitos T citotóxicos ( $CD8^+$ ) activados, éstos comenzarán a secretar varias toxinas que causarán la lisis o apoptosis (muerte celular) de la célula infectada. Para prevenir que las células citotóxicas destruyan células normales que presenten proteínas propias del organismo, estos linfocitos T autoreactivos son eliminados del repertorio como resultado de la tolerancia (También conocida como selección negativa).

**Figura N° 3: Los antígenos son sustancias activadas de diversas maneras en el cuerpo humano que forman anticuerpos y activan el sistema inmune.**



Fuente: (Descubre la inmunología, 2011)

### 7.2.7. Autoantígenos.

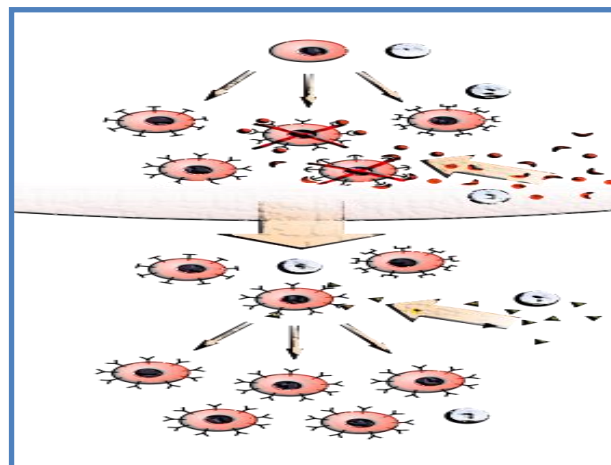
Un autoantígeno se refiere a una proteína o complejo de proteínas normal (algunas veces ADN o ARN) que es reconocido por el sistema inmune.

Ocurre en pacientes que sufren de alguna enfermedad autoinmune específica. Estos antígenos no deberían, en condiciones normales, activar el sistema inmune, pero debido principalmente por factores genéticos y ambientales, se ha perdido una correcta tolerancia inmunológica en esos pacientes.

#### 7.2.8. Antígenos tumorales.

Los antígenos tumorales o neo antígenos son aquellos antígenos que son presentados por moléculas MHC I o MHC II (del complejo mayor de histocompatibilidad) que se encuentran en la superficie de células tumorales. Cuando este tipo de antígenos son presentados por células provenientes de un tumor, en este caso serán llamadas antígenos tumorales específicos (TSAs por sus siglas en inglés) y generalmente, son resultado de una mutación específica. Más comúnmente existen los antígenos que son presentadas por células normales y tumorales, llamados antígenos asociados a tumores (TAAs por sus siglas en inglés). Los linfocitos T citotóxicos que reconocen esos antígenos son capaces de destruir la célula tumoral antes de que proliferere o haga metástasis. Los antígenos tumorales también pueden estar en la superficie de un tumor, formando por ejemplo, un receptor mutado, en cuyo caso será reconocido por linfocitos B.

**Figura N° 4: Inmunidad humoral.**



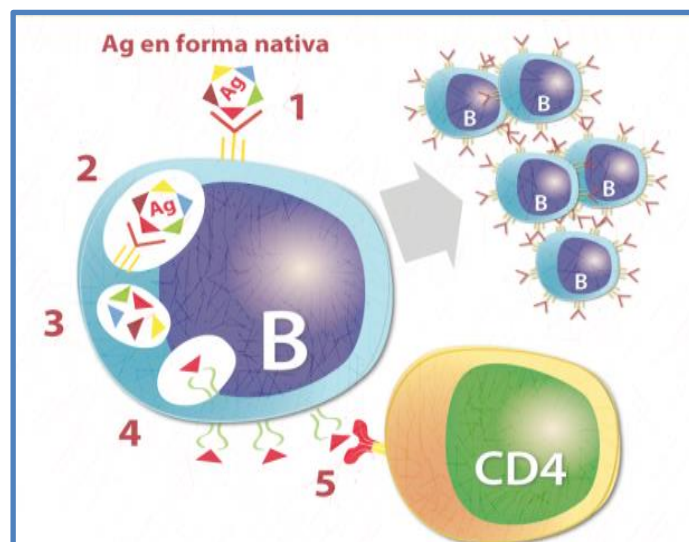
Fuente: (Commons , 2006).

### 7.2.9. Antígenos nativos.

Un antígeno nativo es un antígeno que aún mantiene su forma original y no ha sido procesado por una célula presentadora de antígenos en partes más pequeñas.

Los linfocitos T no se pueden unir a los antígenos nativos, ya que necesitan de la ayuda de células presentadoras de los antígenos para que los procesen, mientras que los linfocitos B sí pueden ser activados por esta clase de antígenos. (Inmunohematología, 2009).

**Figura N° 5: El antígeno en su forma nativa reacciona directamente con las inmunoglobulinas.**



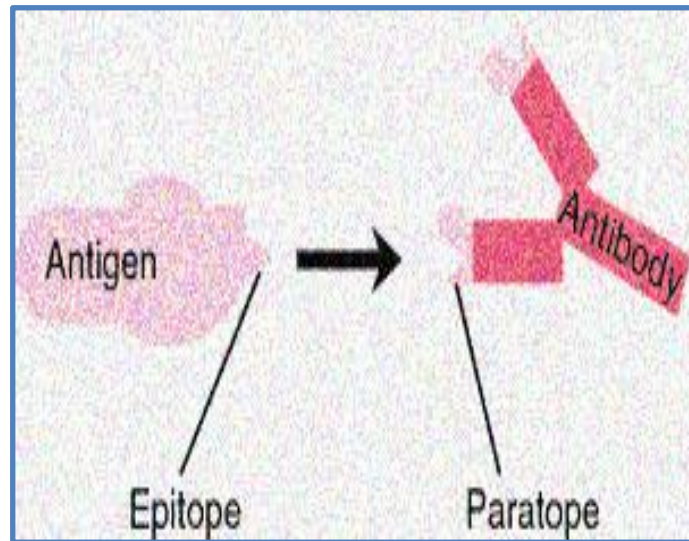
Fuente: (Genomasur, 2009)

### 7.2.10. Antígenos (Estructura, función, propiedades, clasificación)

#### 7.2.10.1. Epítomos.

Los epítomos o determinantes antigénicos son cada uno de los sitios discretos de una macromolécula que son reconocidos individualmente por un anticuerpo específico o por un TCR específico. Son las regiones inmunológicamente activas de un inmunógeno (las que se unen de hecho a un receptor de linfocitos o a un Ac libre).

**Figura N° 6: Medio de unión entre un Ag (Epítopo) y un Ac (Paratopo).**



Fuente: (The free dictionary, 2003)

Por lo tanto, a partir de ahora habremos de acostumbrarnos a pensar en los antígenos como estructuras complejas que suelen constar de varios tipos de epítomos, cada uno de ellos capaz de unirse con un Ac o un TCR específico diferente. En este sentido, las macromoléculas son antígenos multivalentes, si hablamos de antígenos proteicos, esta unión suele implicar varios niveles de la estructura del antígeno, desde la primaria a la terciaria (y, en su caso) a la cuaternaria.

En el caso de los polisacáridos, las ramificaciones debidas a distintos enlaces glucosídicos suponen conformaciones peculiares que son reconocidas de modo específico.

#### 7.2.10.2. *Haptenos.*

Se define como hapteno, aquel grupo químico definido, de pequeño tamaño, que por sí mismo es incapaz de desencadenar una respuesta inmune (es decir, no es inmunógeno), pero que unido covalentemente a una molécula portadora se comporta como inmunógeno (llegando a constituir el único determinante inmunodominante del conjugado).

7.2.10.3. *Funciones de los antígenos.*

Es una sustancia que desencadena la formación de anticuerpos y puede causar una respuesta inmune. 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.

**Figura N° 7: Presencia o ausencia de estos antígenos. Hay cuatro tipos: A, B, AB, O.**

GRUPO A (AA - AO)	GRUPO B (BB - BO)	GRUPO AB (AB)	GRUPO O (OO)
 AGLUTINÓGENOS A	 AGLUTINÓGENOS B	 AGLUTINÓGENOS A - B	 SIN AGLUTINÓGENOS
 AGLUTININAS B	 AGLUTININAS A	SIN AGLUTININAS	 AGLUTININAS A - B

Fuente: (Fisiología, 2011)

7.2.10.4. *Tolerógeno.*

Antígeno que invoca una no-respuesta inmune específica debido a su forma molecular.

7.2.10.5. *Alérgeno.*

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



### 7.2.11. **Propiedades generales de los antígenos.**

Como requisito básico, tienen que tener la calidad de extraños al cuerpo humano. Esto no significa que todos los antígenos vienen de afuera, también pueden estar en nuestro cuerpo, en forma de antígenos secuestrados.

**Autoinmunidad:** No todos los antígenos provocan respuesta inmune, aun siendo exógenos, debido a la cantidad de inóculo que se introduce, que debe ser de proporción considerable para desencadenar una respuesta (p.ej.: el carbón activado, que solo llega a activar a los macrófagos). La respuesta inmune está bajo control genético. Gracias a esto, el sistema inmune decide cuándo responder y cuándo no, y contra quién va a responder. La estructura básica de un antígeno también tiene una relevancia importante. Esto se debe a que en la inmunidad mediada por células intervienen los linfocitos T y B.

### 7.2.12. **Propiedades físicas de los antígenos.**

**Volumen:** Sustancias arriba de 10.000 daltones funcionan como inmunógenos, con dos excepciones: la insulina y el glucagón, que a pesar de tener bajo peso molecular funcionan como inmunógenos.

**Complejidad:** Ésta depende, del estado de agregación de la molécula. Así, se puede tener una molécula lineal no agregada en la cual puede no producirse la respuesta inmune deseada; pero a medida que se vayan agregando más moléculas, haciéndola más compleja, se va aumentando el volumen y la molécula se hace más inmunogénica dándole una mayor complejidad a la respuesta.

**Conformación de la molécula:** Por ejemplo en las proteínas, cuando se desnaturaliza una proteína y llega a su estructura primaria, se vuelve lineal y tiene una menor cantidad de determinación antigénica. Pero a medida que una proteína vaya haciendo más compleja su estructura, como por ejemplo una proteína globular, va a tener un mayor poder inmunogénico en el sentido en que su conformación va formando una mayor cantidad de determinantes antigénicos.

**Accesibilidad:** Se refiere a la accesibilidad del determinante antigénico. Si un determinante antigénico está en el centro de una estructura compleja y densa, entonces no es accesible al sistema inmune, y por lo tanto no se puede desarrollar ninguna respuesta inmune hacia él. En cambio, hay otros antígenos que pueden ser medianamente accesibles, y estos van a dar una respuesta inmune débil no protectora.

### 7.2.13. Propiedades químicas de los antígenos.

La naturaleza química de los antígenos son principalmente proteínas. La mayor cantidad de antígenos son proteínas, seguidos de carbohidratos, glucoproteínas. Los lípidos puros no son inmunogénicos. La propiedad química es importante para efectos de antigenicidad o inmunogenicidad, ya que un cambio de un aminoácido en la estructura de una proteína, cambia la especificidad de éste y la respuesta inmune que desencadena no es la misma.

La estructura química que influye en la inmunogenicidad es de dos tipos:

1. Determinantes seriados o moléculas seriadas, por ejemplo la estructura primaria de una proteína que es lineal.
2. Los determinantes de conformación, que dependen de la estructura secundaria, terciaria y cuaternaria de una proteína.

#### 7.2.13.1. *ABH.*

Las especificidades antigénicas del sistema A, B y H, están determinadas por las estructuras de hidratos de carbono terminales que se hallan unidas a los diversos componentes de la membrana eritrocitaria.

Las sustancia A se forma por la afición de una N-acetil-galactosamina; la B por la adición de una D-galactosa a la sustancia H, mediante las adecuadas transferasas.

Las cadenas de aligosacáridos, se unen ya sea directamente a la membrana celular, o bien a las cadenas de proteínas que emergen de la capa lipídica. La mayoría de los sitios antigénicos están relacionados con la glicoproteínas de la banda 3, aunque también se observan otras asociaciones antigénicas con los glucolípidos, las glucosilceramidas y las sialoglicoproteínas.

#### 7.2.13.2. *Lewis.*

La sustancia Le se forma por adición de la L-fucosa a la azúcar sub terminal de la sustancia precursora en la sustancia Le, la L-fucosa se añade tanto a ese azúcar como al terminal.

El sistema Lewis se compone de antígenos solubles de los líquidos corporales que, a partir del plasma, se adsorben inespecíficamente sobre las membranas eritrocitarias. Los antígenos Lewis no se unen integralmente a las estructuras de la membrana, lo que explica la pérdida de especificidad del antígeno Lewis por parte de las células transfundidas.

#### 7.2.13.3. *Antígeno P.*

La mayoría de los individuos poseen el antígeno P sobre sus hematíes (1/100.000 son negativos), con fenotipo P1 o P2 según la cantidad respectiva que exista en los tres antígenos P1, P o Pk sobre la membrana eritrocitaria. Las diferencias entre los tres tipos antigénicos se deben a los hidratos de carbono (D-galactosa) que se añade a los glicoesfingolípidos de la membrana eritrocitaria por la acción de la transferasas codificadas por los genes del sistema P.

#### 7.2.13.4. *Antígenos li.*

Los antígenos l e i, son estructuras relacionadas entre sí; representan la sustancia precursora de l, en gran parte del mismo modo como H es la sustancia precursora de los antígenos eritrocitarios A y B. los antígenos l e i, se encuentran en relación inversa en cuanto a su concentración en la membrana.

Así, mientras los hematíes del recién nacido tienen concentraciones muy elevadas del antígeno i, los del adulto poseen característicamente un predominio casi absoluto del antígeno I, con un poco de i. (Di Pascuale, 2005, págs. 85-90)

La reducción de números de leucocitos se obtiene con filtros especiales diseñados específicamente para este fin y que se deben usar apropiadamente para poder cumplir sus propios objetivos. Dicha reducción puede realizarse antes de o en el momento de la transfusión, o después de la reducción y antes del almacenamiento; los beneficios varían según el método. En el primer caso, su utilidad depende de la duración del almacenamiento de la unidad, del contenido inicial de leucocitos y del uso apropiado del filtro; reduciendo el número de leucocitos antes del almacenamiento se genera en la bolsa almacenada una baja concentración de citoquinas que puede disminuir el riesgo de reacciones post-transfusionales no hemolíticas.

Los pacientes con reacciones febriles graves y recurrentes deben recibir componentes con reducción del número de leucocitos y en estos casos se debe elegir la filtración antes del almacenamiento.

Los estudios existentes indican que el uso rutinario de GR con reducción del número de leucocitos disminuye la posibilidad de aloinmunización primaria a los antígenos leucocitarios.

Los glóbulos rojos con reducción del número de leucocitos han demostrado ser eficaces en las siguientes indicaciones: reducción de la aloinmunización HLA que pueda conducir a la aparición de refractariedad a la transfusión de plaquetas, profilaxis en pacientes inmunodeprimidos, susceptibles a la infección por CMV, reducción de las reacciones febriles no hemolíticas por reducción de los leucocitos y de la liberación de citoquinas durante el almacenamiento y reducción del riesgo de contaminación de los GR.

Durante la administración de preparados obtenidos por filtración en el momento de la transfusión no se necesita usar un filtro estándar; en cambio, con los obtenidos por filtración antes del almacenamiento si se hace necesario su uso.

**Volumen:** Es de 350 ml, vigencia de 42 días con citato fosfato dextrosa + manitol, se conserva de 2-6°C.

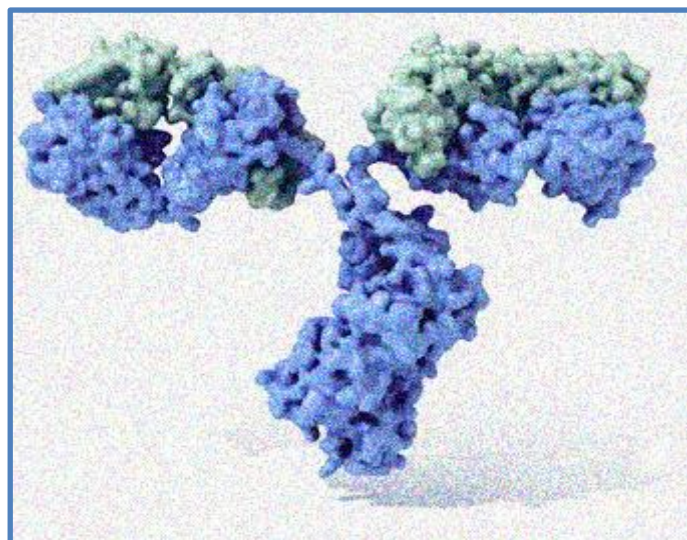
**Ventajas:** Para disminuir la transmisión de infecciones virales a través de la transfusión sanguíneas homologa. También para reducir la aloinmunización, especialmente en pacientes que requieren sostén de transfusión de plaquetas.

**Desventajas:** Los leucocitos son un lugar latente de infección por CMV. Las reacciones febriles pueden también ocurrir en ausencia de anticuerpos plaquetarios o leucocitos.

#### 7.2.14. *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.

**Figura N° 8: Anticuerpo.**



Fuente: (Doslourdes, 2012).

Los anticuerpos son las moléculas de la inmunidad humoral específica y una de sus principales funciones fisiológicas es la defensa contra los microorganismos extracelulares y las toxinas producidas por los distintos agentes microbianos. Aunque los blancos de los anticuerpos son comúnmente bacterias extracelulares, hongos y parásitos extracelulares, estas moléculas tienen también un papel muy importante en el control de los procesos infecciosos producidos por los microorganismos intracelulares obligados, tales como los virus, debido a que pueden reconocerlos antes que ellos infecten las células o cuando son liberados como viriones desde las células infectadas.

Sin embargo, a pesar de su alta especificidad por microorganismos y toxinas microbianas, los anticuerpos requieren de otros mecanismos efectores, tales como el complemento, las células fagocíticas y las células citotóxicas para eliminar los antígenos.

#### 7.2.14.1. *Estructura, función, propiedades, clasificación.*

Los anticuerpos son glicoproteínas (proteínas unidas a azúcares) (inmunoglobulinas) secretadas por un tipo particular de células, los plasmocitos. Los plasmocitos son el resultado de la proliferación y diferenciación de los linfocitos B que han sido activados. Su propósito es reconocer cuerpos extraños invasores como las bacterias y virus para mantener al organismo libre de ellos. La producción de anticuerpos forma parte de la respuesta inmune humoral.

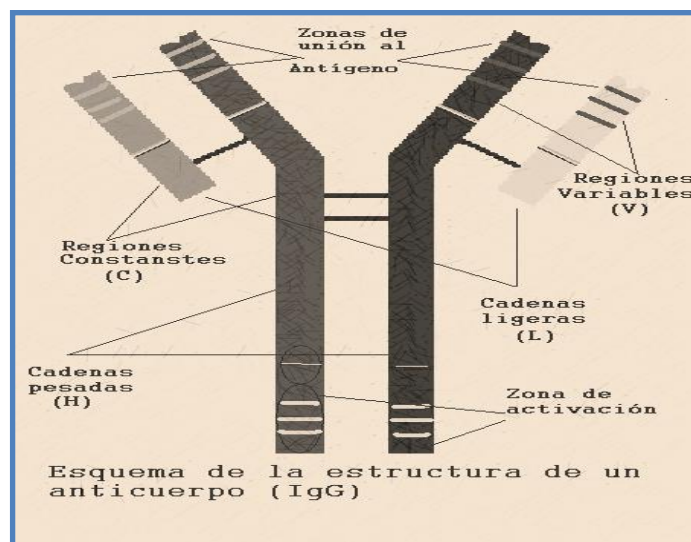
Los anticuerpos son proteínas variables producidas por los linfocitos B del sistema inmunitario frente a una infección. Circulan como unos de los componentes principales del plasma en la sangre y la linfa. Su función es captar los microorganismos patógenos y sus toxinas cuando estos se encuentran en espacios extracelulares del cuerpo.

Las moléculas que se unen a los anticuerpos, son los antígenos. Todos los tipos de macromoléculas biológicas, funcionan como antígenos pero las proteínas y los hidratos de carbono son las más comunes.

La unión de los anticuerpos a un patógeno pueden inactivar al patógeno y también tomarlo susceptible a la destrucción por otros componentes del sistema inmunitario. La mayor parte de las vacunas brindan protección a través de la estimulación en la producción de anticuerpos. Cada anticuerpo es específico; cada anticuerpo puede unirse a un solo antígeno o a un número muy pequeño de antígenos diferentes.

Los anticuerpos, son secretados por las proteínas conocidas más generalmente como inmunoglobulinas (Ig). La producción de anticuerpos es la función efectora de los linfocitos B del sistema inmunitario.

**Figura N° 9: Estructura de anticuerpo.**



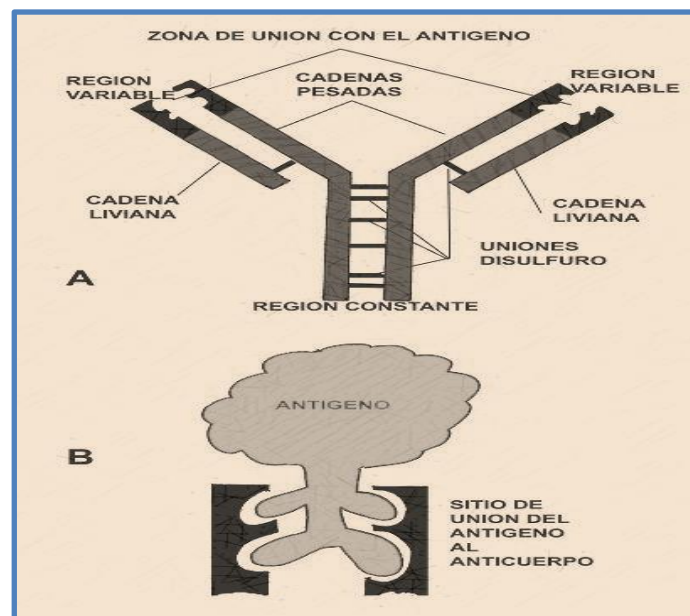
Fuente: (Commons , 2006)

Los anticuerpos están compuestos por polipéptidos con regiones variables y constantes. Los anticuerpos son glucoproteínas compuestas por una unidad básica de cuatro cadenas polipeptídicas. Esta unidad consiste en dos cadenas pesadas (cadenas H) idénticas y dos cadenas livianas (cadenas L) idénticas de menor tamaño que se ensamblan en una estructura parecida a la Y. Una molécula de IgG tiene un peso de aproximadamente 150 kDa, al cual cada cadena pesada contribuye con aproximadamente 50 kDa, y cada cadena liviana con aproximadamente 25 kDa.

Cada brazo de la Y está formada por una cadena liviana completa apareada con el extremo amino (extremo N) de una cadena pesada unidos de forma covalente por un puente disulfuro. El tallo de la Y consiste en los extremos carboxilos (extremo C) apareados de las dos cadenas pesadas. Las dos cadenas pesadas están unidas entre sí, por puentes disulfuros.

Las cadenas polipeptídicas de anticuerpos diferentes varían mucho en su secuencia de aminoácidos y las diferencias de secuencia se concentran en la región del extremo amino de cada tipo de cadena; esta región se le conoce como región variable o región V. Esta variabilidad es la razón de la gran diversidad de especificidades de unión al antígeno que existe entre los anticuerpos, porque las regiones V apareadas de una cadena pesada y una cadena liviana forman el sitio de unión al antígeno.

**Figura N° 10: Estructura de anticuerpo que posee también la región variable.**



Fuente: (Commons , 2006)

Por consiguiente cada molécula de anticuerpo con forma de Y tiene dos sitios de unión al antígeno idénticos, uno al final de cada brazo.



Las partes restantes de las cadenas livianas y pesadas tiene una variación mucho menor de secuencia de aminoácidos entre anticuerpos diferentes y por ende se les conoce como regiones constantes o regiones C.

En la IgG una parte relativamente no estructurada ubicada en el medio de las cadenas pesadas forma una región de bisagra flexible por la que la molécula puede ser degradada para producir determinados fragmentos de anticuerpo.

Los fragmentos correspondientes a los brazos se llaman fragmento Fab (del inglés fragment antigen binding) porque se unen al antígeno. El fragmento que corresponde al tallo de la Y, se llama Fc (Fragmento cristalizante).

Las diferencias en las regiones C de las cadenas pesadas definen cinco iso tipos o clases principales de las inmunoglobulinas que tienen funciones diferentes en la respuesta inmunitaria. Ellas son:

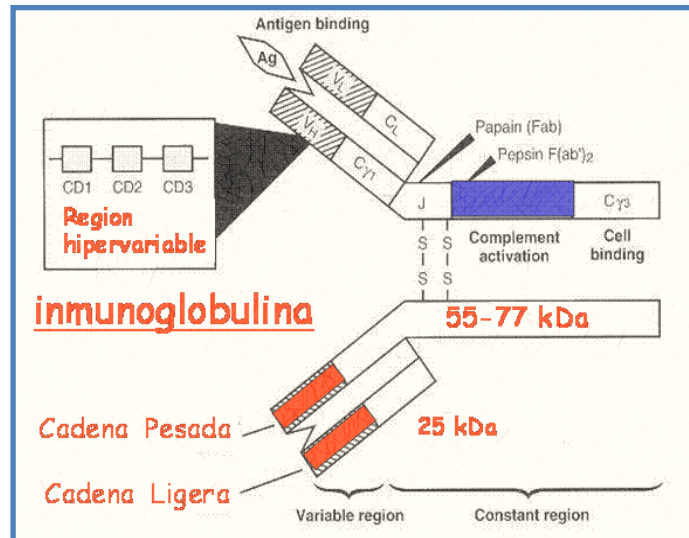
- La inmunoglobulina A (IgA),
- la inmunoglobulina D (IgD),
- la inmunoglobulina E (IgE),
- la inmunoglobulina G (IgG),
- la inmunoglobulina M (IgM).

Las cadenas livianas tienen solo dos isotipos o clases que se denominan kappa ( $\kappa$ ) y lambda ( $\lambda$ ).

#### 7.2.15. Estructura de las cadenas livianas.

Existen dos tipos de cadenas livianas, las  $\kappa$  y las  $\lambda$ . Una inmunoglobulina posee dos cadenas livianas idénticas, pero siempre deben ser del mismo tipo ambas  $\kappa$  o ambas  $\lambda$ . Dentro de cada cadena liviana se diferencian dos dominios, un dominio constante (CL) y uno variable (VL).

**Figura N° 11: Cadenas ligeras y pesadas divididas en dominios.**



Fuente: (Epimiología Molecular, 2013)

#### 7.2.16. Estructura de las cadenas pesadas.

Las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas son las que determinan su clase o isotipo. De ésta forma, existen cinco cadenas,  $\alpha$ ,  $\gamma$ ,  $\epsilon$ ,  $\delta$  y  $\mu$ .

Cada cadena pesada presenta dominio uno variable (VL) y uno constante (CL) Cada dominio constante se subdivide a su vez en varios dominios (Gómez-Lucía et al 2007).

Cabe destacar que los dominios variables, presentan tres zonas muy próximas al extremo amino-terminal donde se concentra la mayor variabilidad en la secuencia de aminoácidos. A estas tres regiones, se les denomina como regiones hipervariables o regiones determinantes de complementariedad (CDR1, CDR2, CDR3) y permiten entrar en contacto a la inmunoglobulina con determinantes antigénicos específicos.

Los anticuerpos que funcionan en medios extra celulares cuando se produce una infección, puede hallar variaciones en el pH, la concentración de sales, las enzimas proteolíticas y otros factores potencialmente desestabilizadores.

Sin embargo, su estructura ayuda a que resistan condiciones tan desfavorables. Las cadenas pesadas o livianas consisten en una serie de motivos de secuencias similares; un motivo aislado tiene aproximadamente de 100 a 110 aminoácidos de longitud y se pliega en un dominio de proteína compacto y excepcionalmente estable llamado dominio de inmunoglobulina. Cada cadena de inmunoglobulina está compuesta por una serie lineal de estos dominios.

La región V que se encuentra al final del extremo amino de cada cadena pesada o liviana está compuesta por un único dominio variable. En la cadena pesada y en la cadena liviana. Un dominio V (H) junto con un dominio V (L), forman el sitio de unión al antígeno. Los otros dominios tienen poca o ninguna diversidad de secuencia de un isótopo particular y se denominan dominios constantes (dominios C) que constituyen las regiones C. la región constante de una cadena liviana está compuesta por un solo dominio C (L).

En tanto que la región constante de una cadena pesada está compuesta por tres o cuatro dominios según el isotipo. Las cadenas pesadas de las IgG tienen tres dominios C (H1), C (H2) y C (H3).en las moléculas de las IgG completa el apareamiento de las cuatro cadenas polipeptídicas produce tres regiones globulares, que corresponden a los brazos Fab y al tallo Fc, respectivamente, cada una de las cuales está compuesta por cuatro dominios de inmunoglobulinas. (García, 1997).

Los sitios de unión al antígeno varían en su forma y sus propiedades físicas. La función de los anticuerpos es unirse a los microorganismos y facilitar su destrucción o expulsión del cuerpo. Los anticuerpos más eficaces contra las infecciones generalmente son aquellos que se unen a las moléculas expuestas y accesibles que constituyen la superficie de un patógeno.

La parte de un antígeno a la que se une un anticuerpo se llama determinante antigénico o epítipo. En la naturaleza estas estructuras habitualmente son hidratos de carbono, proteínas o ambos, porque las moléculas de la superficie de los patógenos en general son glucoproteínas, polisacáridos, glucolípidos y peptidoglucanos.

Las macromoléculas complejas como estas habitualmente contienen varios epítomos diferentes, cada uno de los cuales puede unirse a un anticuerpo distinto.

#### 7.2.17. Funciones de los anticuerpos.

La principal función de los anticuerpos consiste en reconocer y unirse al antígeno, para la destrucción de éste. Para conseguir este fin, el dominio constante de la inmunoglobulina puede activar los siguientes mecanismos:

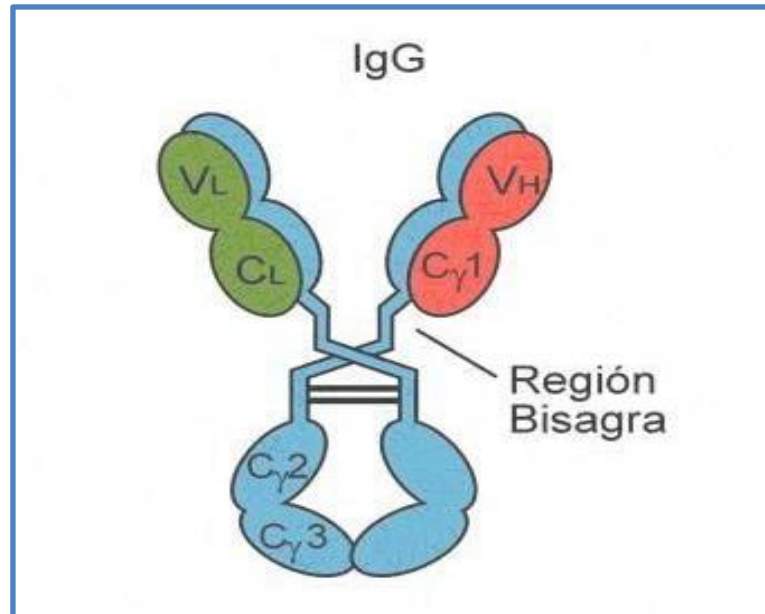
- Activación del sistema del complemento, que termina con la lisis del microorganismo.
- Oponización de los microorganismos. Los anticuerpos se unen al antígeno, presentándolo a un macrófago para su destrucción.
- Precipitación de toxinas disueltas en el plasma. Así, son fácilmente destruidas por los macrófagos.
- Aglutinación de antígenos en una determinada zona, facilitando la acción de los fagocitos y los linfocitos. (Rojas, 2004, págs. 112-113).

#### 7.2.18. Tipos de los anticuerpos.

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 representa el 80 % del total.

La IgG: esta inmunoglobulina puede atacar a cualquier tipo de patógeno, por ejemplo virus, bacterias y hongos, bloqueando sus toxinas. Tiene cuatro subtipos, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4. Es la inmunoglobulina más abundante en el plasma y a consecuencia de su relativamente bajo Pm, difunde bien a otros líquidos corporales. Además atraviesa fácilmente la barrera placentaria.

**Figura N° 12: Estructura de inmunoglobulina IgG.**



Fuente: (Iberovet, 2011).

#### 7.2.19. La IgA.

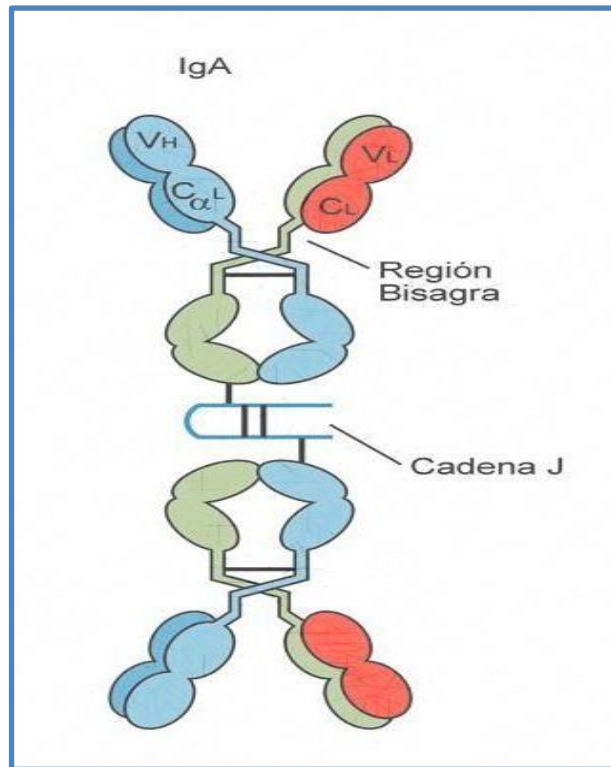
Representa alrededor del 15 al 20 % de las inmunoglobulinas de la sangre.

Actúa contra patógenos que contactan con la superficie corporal, ingeridos o inhalados.

Existen dos formas:

- IgA1 e IgA2. Es la Ig predominante en las secreciones externas.
- La Ig A inhibe la adherencia de los microorganismos a la superficie de las células mucosas, por lo que se constituye en una de primera línea de defensa frente a las infecciones.

**Figura N° 13: Estructura de inmunoglobulina IgA.**



Fuente: (Iberovet, 2011)

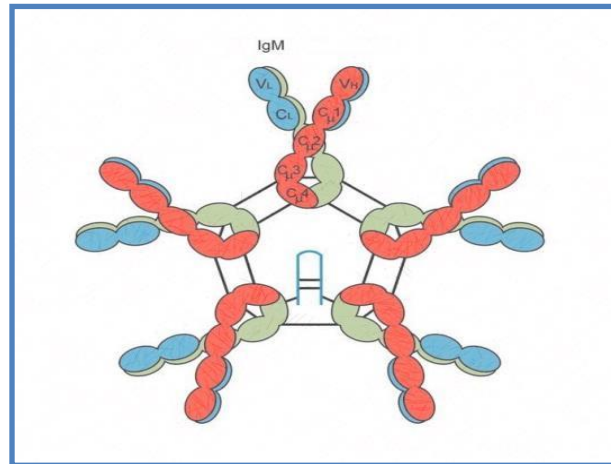
### 7.2.20. La IgM.

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.

Debido a su elevado P<sub>m</sub> se puede decir que es una macroglobulina, es un parámetro de la estructura básica de las Ig, estando los cinco monómeros unidos entre sí, mediante puentes disulfuro y una cadena polipeptídica adicional denominada proteína J. Es multivalente, y está confinada al espacio intravascular.

**Figura N° 14: Estructura de inmunoglobulina IgM.**



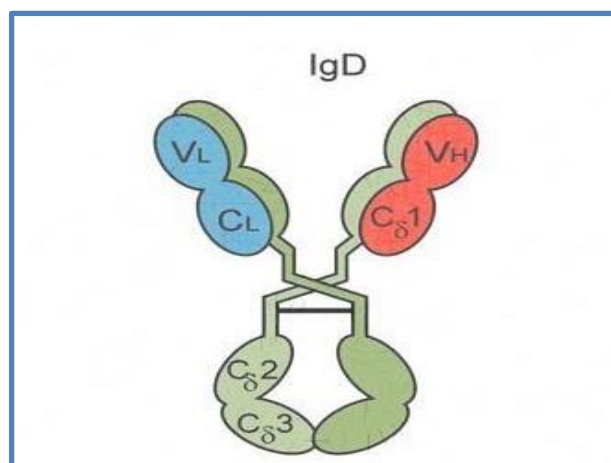
Fuente: (Iberovet, 2011)

#### 7.2.21. La IgD.

Constituye alrededor del 1% en la membrana plasmática de los linfocitos B. Participa en el desarrollo de células de memoria en los linfocitos B.

Es un monómero de la estructura básica de las Ig. En el plasma es muy poco abundante.

**Figura N° 15: Estructura de inmunoglobulina IgD.**

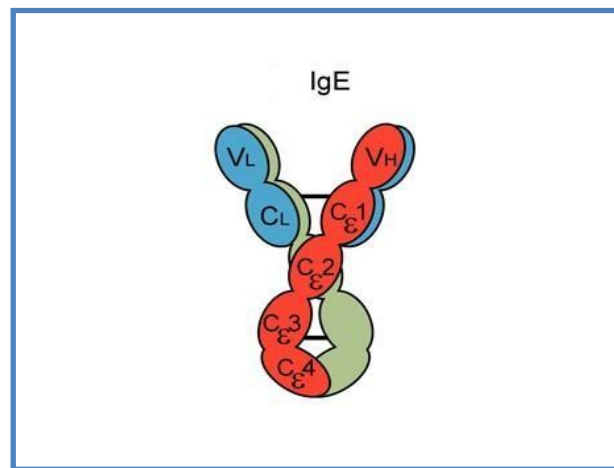


Fuente: (Iberovet, 2011)

### 7.2.22. La 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. Es monomérico, además es responsable de las manifestaciones atópicas.

**Figura N° 16: Estructura de inmunoglobulina IgE.**



Fuente: (Iberovet,

2011)

**Autoanticuerpos:** el término autoanticuerpos se usa para designar todo anticuerpo que reacciona con el antígeno hallado en el mismo sujeto que produce aquel. Además, reacciona con el mismo antígeno hallado en otros individuos normales. (Rodríguez, 2007, págs. 10-12)

### 7.2.23. Reacción antígeno – anticuerpo.

La alteración antígeno-anticuerpo puede verse en diferentes contextos, uno de estos es la reacción de aglutinación de los eritrocitos, pues es el fenómeno que por lo general ocurre en la mayoría de las técnicas que se realizan en inmunohematología. Existen 2 requisitos para la reacción antígeno-anticuerpo se produzca: uno es la adecuada complementariedad de encaje, podrán unirse a los anticuerpos solo aquellos antígenos con determinantes antigénicos que se ajustan al sitio de combinación del anticuerpo.



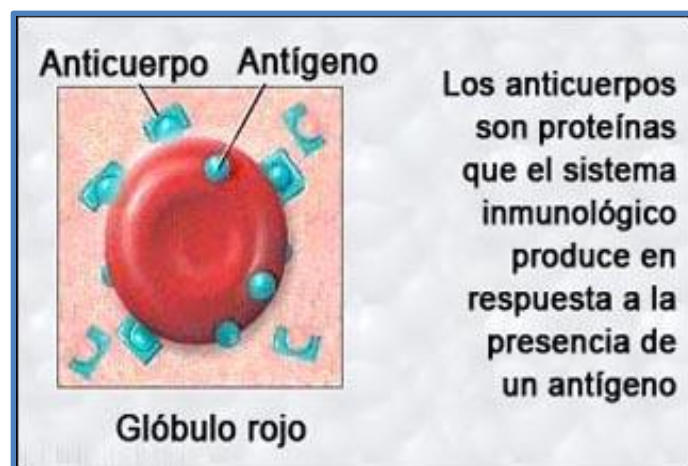
El otro requisito es la complementariedad de carga, las cargas opuestas de antígenos y anticuerpos crean fuerzas de atracción, mientras que las cargas iguales crean fuerzas de repulsión.

Una vez que se forma el complejo antígeno-anticuerpo, las fuerzas que lo mantienen unido no son interacciones covalentes, son interacciones interatómicas débiles que mantienen al antígeno y al anticuerpo en un contacto muy cercano, capaz de desarrollar fuerzas que estabilizan la unión compleja como las interacciones iónicas, puentes de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals e interacciones hidrofóbicas.

Los anticuerpos aglutinan a los eritrocitos en 2 etapas: en la primera el anticuerpo se une físicamente al antígeno en los eritrocitos (sensibilización), en la segunda los eritrocitos, a los cuales los anticuerpos se unieron, aglutinan formando puentes entre ellos para crear una estructura de enrejado que constituye la aglutinación.

En algunas reacciones antígeno-anticuerpo las 2 etapas ocurren casi simultáneamente, mientras que en otras solo ocurre la primera etapa de la reacción, es decir, hay sensibilización de los eritrocitos por anticuerpos no aglutinantes.

**Figura N° 17: Reacción antígeno anticuerpo.**



Fuente: (Quimbiotec, 2010)

#### 7.2.24. Primera etapa de la reacción de aglutinación.

La primera asociación o disociación del complejo antígeno-anticuerpo se rige por la ley de acción de masas esta es una acción reversible: (Antígeno-Anticuerpo) donde antígeno- anticuerpo son las concentraciones del antígeno, anticuerpo y complejo antígeno-anticuerpo respectivamente  $k_1$  es la constante de asociación y  $k_2$  es la de disociación.

De acuerdo con la ley de acción de masas:

- Antígeno-Anticuerpo  $k_1$ .
- Antígeno-Anticuerpo  $k_2$ .

**K:** Es la constante de equilibrio o afinidad de la reacción y refleja la fuerza de unión entre el antígeno y el anticuerpo. Mientras mayor sea  $K$  la velocidad de asociación de la reacción será mayor, es decir, serán mayores las cantidades que se forman del complejo antígeno-anticuerpo y la velocidad de disociación será más lenta.

La constante de equilibrio  $K$  en la reacción de aglutinación, se afecta por las concentraciones de antígeno y anticuerpo, y por condiciones físicas de las técnicas tales como  $pH$ , temperatura, fuerza iónica y tiempo de incubación.

La alteración de estas últimas condiciones, puede producir aumento o disminución de la sensibilidad en la aglutinación. (Inmunohematología, 2009)

#### 7.2.25. Factores que afectan a la reacción antígeno anticuerpo.

##### 7.2.25.1. Concentración de antígeno y anticuerpo.

Aunque está muy relacionada, un exceso de anticuerpos podrá inhibir la aglutinación como en la precipitación en el efecto prozona de la curva de equivalencia. Una relación comúnmente usada es de dos gotas de suero con una gota de eritrocitos re suspendidos a 2-3 % en solución fisiológica.

#### 7.2.25.2. *pH.*

No existe un pH exacto óptimo, pero se dice que entre 6-7,3 se detecta la mayoría de los grupos sanguíneos clínicamente significativos, con excepciones como el anti MeI que actúan mejor a pH más bajos, notándose marcadamente el cambio de la especificidad de los anticuerpos en especial de los monoclonales

#### 7.2.25.3. *Temperatura.*

La temperatura tiene efectos inversamente proporcionales con la constante de equilibrio y la velocidad de reacción si uno se aleja de los puntos ideales a trabajar. En inmunohematología los anticuerpos eritrocitarios reaccionan dentro de un margen restringido de temperatura.

#### 7.2.25.4. *Fuerza iónica.*

La fuerza iónica está directamente relacionada con el potencial Z. En la solución salina isotónica normal, los iones de Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup> se reúnen alrededor de los antígenos y los anticuerpos, neutralizando parcialmente las cargas opuestas, lo que impide la asociación del anticuerpo con el antígeno, pero puede disminuirse de diferentes formas. La eliminación, neutralización o disminución de estas cargas ayuda a conseguir una constante de equilibrio mejor y a incrementar la velocidad de reacción. (Medigraphic, 2005)

### 7.2.26. **Características físicas que favorecen a reacción antígeno anticuerpo.**

#### 7.2.26.1. *Especificidad.*

Capacidad del anticuerpo de unirse al antígeno que lo estimuló a través del epítipo o determinante antigénico mediante uniones intermoleculares débiles. La unión dada por la especificidad es muy precisa y permite distinguir entre grupos químicos con diferencias mínimas a pesar de su similitud; además, permite la detención de un sólo antígeno en cuestión.

#### 7.2.26.2. *Rapidez.*

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

#### 7.2.26.3. *Espontaneidad.*

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

### 7.2.27. **Características químicas que favorecen la reacción antígeno anticuerpo.**

#### 7.2.27.1. *Neutralización.*

Mediante anticuerpos específicos se pueden neutralizar toxinas, virus o enzimas. Los anticuerpos neutralizantes requieren un solo tipo de combinación con el antígeno para poder actuar y así puedan ser univalentes aunque anticuerpos divalentes y multivalentes pueden neutralizar también, un antisuero que contiene anticuerpos neutralizantes contra una toxina se denomina "antitoxina".

#### 7.2.27.2. *Precipitación.*

La reacción de precipitación ocurre cuando se combina un anticuerpo por lo menos divalente, con un antígeno soluble y esto conlleva a la formación de agregados que precipitan. Como las reacciones de precipitación son fácilmente observables in vitro estas resultan pruebas serológicas muy útiles, especialmente para medir concentraciones de anticuerpos.

Para que la precipitación ocurra de manera máxima se necesita que tanto el antígeno como el anticuerpo estén en buenas concentraciones óptimas, cuando cualquiera de los reaccionantes están en exceso no se pueden formar grandes agregados antígeno-anticuerpo.

#### 7.2.27.3. *Aglutinación.*

Cuando un antígeno partícula direccionado con su anticuerpo específico (divalente por lo menos) se observa la formación de grumos a agregados que precipitan esto se conoce como aglutinación. En estas reacciones el determinante antigénico está sobre la superficie de una partícula o de una célula.

#### 7.2.27.4. *Opsonización.*

Producida por unos anticuerpos especiales (opsoninas) que se fijan sobre la superficie del antígeno facilitando la acción de células fagocitarias y células asesinas naturales (nk).

#### 7.2.28. *Medios de reacción.*

El fenómeno de la aglutinación requiere de métodos apropiados facilitando la fusión y formación de complejo Ag-Ac para formar aglutinados celulares.

##### 7.2.28.1. *Medios salinos.*

La Solución Salina debe tener una concentración de 0,9 %, los anticuerpos que produce una aglutinación en salina siempre son de tipo IgM, ellos suelen ser antimitinas frías como una reactividad óptima de 4 a 24 grados centígrados, algunos anticuerpos salinos de tipo anti-a y anti-b reaccionan bien la temperatura de laboratorio (18 a 24 °C). Pero pueden hacerlo mejor a una menor temperatura, con anticuerpos de gran avidéz se puede reservar una aglutinación fuerte cuando la región se practica en lámina.

##### 7.2.28.2. *Medios proteicos.*

Un gran número de anticuerpos especialmente los que corresponden al sistema Rh, potencia su región cuando se emplea un medio de alta proteína o hipoproteína, la albúmina bovina o suero humano, fibrinógeno y otros polímeros sintéticos, son efectivos en grado variable.

De todos ellos, la que se ha estandarizado para su uso universal es la albúmina bovina, estos medios producen la distancia intercelular permitiendo la alucinación por anticuerpos de tipo IgG, se ha discutido la concentración óptima es del 22 o 30 %, su composición y preparación es muy importante para el objetivo de reducir la distancia intercelular al punto óptimo que permita la aglutinación por anticuerpos IgG.

**Figura N° 18: Reactivo de albumina bovina es un potenciador.**



Fuente: (Moscaro insumos, 2005)

#### **7.2.29. Solución de baja fuerza iónica.**

La carga de iones positivos y negativos que poseen es inferior a la que contiene la solución salina fisiológica normal, por ello, la interacción de los iones del medio dificulta menos las uniones antígeno-anticuerpo (sensibilización de los hematíes) permitiendo tiempos de incubación más cortos.

En la actualidad es posible disponer de diversos preparados comerciales, que reúnen las propiedades de acortamiento del tiempo de incubación y potenciación de la aglutinación de los hematíes, que se añaden como un reactivo más a la mezcla de suero y hematíes (LISS aditivo).

Esto ofrece la comodidad de no tener que lavar aquellos hematíes con la solución LISS. Para evitar el posible deterioro de algunos antígenos hemáticos debido al medio de baja fuerza iónica, es preciso seguir muy estrictamente las instrucciones que proporciona el fabricante.

**Figura N° 19: Reactivo de baja fuerza iónica (LISS).**



Fuente: (Moscaro insumos, 2005)

#### 7.2.30. **Sangre total.**

La medicina transfusional moderna está basada en la terapia por hemocomponentes, al que la caracterizan tres principios básicos: primero debe siempre identificarse la causa de la deficiencia, segundo solamente deberá administrarse el componente deficitario y tercero deberá existir la máxima seguridad en el producto sanguíneo y su administración.

En un adulto la administración de una unidad de sangre total o una unidad de concentrado de hematíes, elevan igualmente los niveles de Hb en un punto y de Hto en 3 a 4 puntos porcentuales; y ambas, tienen la misma capacidad de transporte de oxígeno.

Se ha demostrado que el empleo de sangre total no beneficia a los pacientes, ya que con ella solo se realiza un sub tratamiento y se da un uso inadecuado e innecesario a un bien tanpreciado.

Por lo tanto ya en la actualidad no existe justificación científica ni clínica para el uso de sangre total, aún en los casos de choque hipovolémico el uso de expansores plasmáticos (coloides y cristaloides) es lo indicado para recuperar la hemodinamia, con el uso posterior de concentrado de glóbulos rojos. Ver anexo 5. Uso de la sangre y sus componentes.

#### 7.2.30.1. *Indicaciones.*

En aquellos casos de pacientes que tiene asociado al déficit de transporte de oxígeno una hipovolemia grave (choque) generalmente en las hemorragias agudas con pérdida de la volemia mayor al 30 % y en los casos de exanguinotransfusión en neonatos o en el empleo de máquinas de circulación extracorpórea, lo que está recomendado es emplear siempre que sea posible, sangre total reconstituida. (Concentrado globular + Plasma fresco congelado).

**Figura N° 20: Bolsa recolectora de sangre total.**



Fuente: (CRHOY Noticias, 2013).

#### 7.2.31. **Hemoderivados que se ofertan en la terapia transfusional.**

El principal objetivo de la terapia transfusional es reducir la mortalidad asociada con la oferta inadecuada de O<sub>2</sub> tisular mediante el procedimiento. El mejor entendimiento del transporte de O<sub>2</sub> de la fisiopatología de la anemia y del mecanismo de la coagulación, posibilita una nueva evaluación de la real necesidad de transfusión.



Por lo tanto, se hace imprescindible el conocimiento de las indicaciones, contraindicaciones y complicaciones de la infusión de hemoderivados. De modo genérico denominamos hemoderivados a todo producto obtenido por diversas tecnologías a partir de la donación de una unidad de sangre si bien hay que distinguir entre: componentes sanguíneos y derivados plasmáticos con relación a su proceso de fraccionamiento. (Bittencourt, Costa, Oliveira, & Costa, 2008, págs. 22, 23, 24)

#### *7.2.32. Concentrado de eritrocitos (CGR).*

Son preparados a partir de una unidad de sangre total tras la extracción de unos 200 a 250 ml del plasma. También se puede obtener por procedimiento de aféresis. Los (CGR) pueden ser des leucocitados a través de filtros de leucocitos o des plasmáticos por la técnica de lavado de solución salina. La práctica de adicionar antes de comenzar la infusión de CGR de 600-100 cc de suero salino al 0,9 % en aquellos casos que se quiera lograr una infusión rápida no es recomendable teniendo en cuenta que implica más riesgos. Volumen aproximadamente 300 ml almacenamiento es de 2-6 °C.

Su principal indicación es el tratamiento de la anemia aguda y crónica en pacientes que únicamente necesitan un aumento de la capacidad de transporte de oxígeno y de la masa celular.

La dosis depende de la clínica del paciente en ausencia de hemorragia o hemolisis, en el adulto una unidad de CGR eleva la concentración media de Hemoglobina en 1 g/dl y Hematocrito es en un 3 %. La necesidad de transfusión de este componente varía de un individuo a otro y según las circunstancias clínicas. (Salazar, 2010)

*La fórmula para el volumen a transfundirse: 14ml x Kg/peso.*

**Ventajas:** Reponer la volemia con soluciones cristaloides y coloides. Una vez restablecida la volemia y controlada la hemorragia las cifras de la hemoglobina entre 7-9 g/dl son suficientes para mantener a un adulto con buena oxigenación hística y solamente se transfundirá si existen síntomas de hipoxia tisular.

**Desventajas:** Cuando haya riesgo de isquemia cerebral o miocárdica aun estando el enfermo asintomático puede ser recomendable alcanzar una cifra entre 9-10 g/dl.

### *7.2.33. Concentrado de eritrocitos (CE) de leucocitados o pobres en leucocitos*

La reducción de números de leucocitos se obtiene con filtros especiales diseñados específicamente para este fin y que se deben usar apropiadamente para poder cumplir sus propios objetivos. Dicha reducción puede realizarse antes de o en el momento de la transfusión, o después de la reducción y antes del almacenamiento; los beneficios varían según el método. En el primer caso, su utilidad depende de la duración del almacenamiento de la unidad, del contenido inicial de leucocitos y del uso apropiado del filtro; reduciendo el número de leucocitos antes del almacenamiento se genera en la bolsa almacenada una baja concentración de citoquinas que puede disminuir el riesgo de reacciones post-transfusionales no hemolíticas.

Los pacientes con reacciones febriles graves y recurrentes deben recibir componentes con reducción del número de leucocitos y en estos casos se debe elegir la filtración antes del almacenamiento. Los estudios existentes indican que el uso rutinario de GR con reducción del número de leucocitos disminuye la posibilidad de aloinmunización primaria a los antígenos leucocitarios.

Los GR con reducción del número de leucocitos han demostrado ser eficaces en las siguientes indicaciones: reducción de la aloinmunización HLA que pueda conducir a la aparición de refractariedad a la transfusión de plaquetas, profilaxis en pacientes inmunodeprimidos, susceptibles a la infección por CMV, reducción de las reacciones febriles no hemolíticas por reducción de los leucocitos y de la liberación de citoquinas durante el almacenamiento y reducción del riesgo de contaminación de los glóbulos rojos. Durante la administración de preparados obtenidos por filtración en el momento de la transfusión no se necesita usar un filtro estándar; en cambio, con los obtenidos por filtración antes del almacenamiento si se hace necesario su uso.

*Volumen es de 350 ml, vigencia de 42 días con CPD +Manitol se conserva de 2-6°C.*

**Ventajas:** Para disminuir la transmisión de infecciones virales a través de la transfusión sanguíneas homóloga. También para reducir la aloinmunización, especialmente en pacientes que requieren sostén de transfusión de plaquetas.

**Desventajas:** Los leucocitos son un lugar latente de infección por CMV. Las reacciones febriles pueden también ocurrir en ausencia de anticuerpos plaquetarios o leucocitos.

### 2.2.33. Concentrado de eritrocitos (CE) lavados.

Su concentración de GR lavados con solución salina fisiológica. El lavado se puede hacer por procedimientos manuales o usando maquinas especiales para tal fin. Después del lavado las células son suspendidas en solución salina fisiológica; a un Hto del 70 a 80 %, en volumen aproximadamente de 180 ml.

Con esta técnica se puede reducir la concentración de leucocitos y aumentar la remoción de plaquetas y restos celulares. La única indicación en adultos es la prevención de reacciones alérgicas recurrentes o graves. También se puede usar para transfusiones intrauterinas.

El lavado se asocia con una pérdida de la masa de GR del 10 a 20 %. Sus riesgos son los mismos que los de GR. Como contienen leucocitos viables, no pueden prevenir la transmisión de CMV. (Cielo Organización, 2011)

*Volumen: 350 ml se conserva con CPD + Manitol de 2 -6 °C.*

**Ventajas:** La trasfusión se realiza a pacientes con reacciones alérgicas severas o recurrentes (incluyendo reacción anafiláctica por IgA) en quienes es importante reducir el volumen de proteínas plasmáticas a transfundir. Vigencia: 42 días.

**Desventajas:** Como contienen leucocitos no previenen totalmente la enfermedad injerto contra huésped y la infección por CMV.

#### 2.2.34. Concentrado de plaquetas (CP).

La transfusión de plaquetas es usada en pacientes con trombocitopenia, o trombopatía, que presentan hemorragia activa (uso terapéutico), o aquellos que están bajo riesgo serio de presentar hemorragia (uso profiláctico). Existen 3 tipos básicos de productos plaquetarios disponibles para la transfusión:

CP obtenido de bolsas de sangre total (pool): Son preparados a partir de unidades individuales, por centrifugación. Cada unidad contiene un mínimo de  $5,5 \times 10^{10}$  plaquetas resuspendidas en 50-70 ml de plasma. Pueden ser almacenadas dependiendo del tipo de material de la bolsa de 3 a 5 días entre 20-24 °C en agitación constante.

CP pobre en leucocitos, son preparados después de centrifugación de la sangre total y obtenido por separación de la capa leucoplaquetaria.

CP por aféresis (tromboféresis): las plaquetas son colectadas de un único donador, en máquinas procesadoras de células. El CP debe contener un mínimo de  $3 \times 10^{11}$  plaquetas, en cerca de 300 ml de plasma, esto equivale a 6-8 concentrados de plaquetas obtenidas de las unidades de sangre total. Pueden ser almacenadas dependiendo el material de la bolsa de 3 a 5 días entre 20-24 °C en agitación constante.

La transfusión de un pool de 6-8 unidades de concentrado de plaquetas o 1 unidad obtenida por aféresis, debería elevar el recuento plaquetario del receptor entre 35.000 y 70.000 /mm<sup>3</sup> en un paciente con una superficie corporal de 2m<sup>2</sup> o 70 kg de peso. La dosis en un adulto es de 6-8 unidades de CP, o 1 unidad de CP por aféresis. La velocidad de perfusión depende del estado cardiocirculatorio del paciente, pero deben ser administrados rápidamente (10-12 min/unidad).

*Volumen 50-70 ml se conserva a 22+/- 2 °C.*

Su vigencia es de 3-5 días. Se administra una unidad por 10 kg peso.

### 2.2.35. Plasma fresco congelado (PFC).

No existe justificativo para el uso de PFC como expansor de volumen o como fuente de proteínas, componentes e inmunoglobulinas, una vez que existen productos alternativos (coloides, albúmina, etc.) más efectivos y seguros.

En pacientes con deficiencia de vitamina K, que no presentan sangrado ni serán sometidos a procedimientos quirúrgicos o invasivos, en estos casos deben recibir tratamiento con vitamina K.

Pacientes cirróticos con TP y TTP prolongados, que tampoco presenten sangrados, no vayan a ser sometidos a procedimientos quirúrgicos o invasivos deben recibir como primera opción tratamiento con vitamina K, durante al menos 72 horas. La transfusión de PFC solo se justifica cuando no se logre la corrección del TP a 1.5 de la relación con el plasma control, en este plazo.

En los pacientes críticos por quemaduras, en fase de reanimación, no puede recomendarse su utilización sistemática. Corrección del efecto anticoagulante de la heparina, si se dispone de Sulfato de Protamina. Reposición del volumen con plasma homólogo en las sangrías terapéuticas tanto en recién nacidos y adultos.

*Volumen 150 – 200 ml. Vigencia de 12 meses a -30°C. (Google, 2012)*

Indicaciones en las que su uso está establecido y demostrada su eficacia:

#### 2.2.35.1. *Púrpura trombótica trombocitopénica.*

Púrpura fulminante del recién nacido, secundaria a deficiencia congénita de la proteína C o de la proteína S siempre que no se disponga de concentrados específicos de dichos factores. Exanguinotransfusión en neonatos para reconstituir el concentrado de hematíes cuando no se disponga de sangre total. Indicaciones en las que su uso está condicionado a la existencia de una hemorragia grave y alteraciones de las pruebas de coagulación. En pacientes que reciben transfusión masiva.

### 2.2.35.2. *Trasplante hepático.*

Reposición de los factores de la coagulación en las deficiencias congénitas, cuando no existen concentrados de factores específicos. Situaciones clínicas con déficit de vitamina K que no permiten esperar la respuesta a la administración de vitamina K endovenosa.

*Volumen: 150 a 200 ml su vigencia es de 12 meses a -30°C.*

Una vez descongelado el tiempo que dura el paquete es dentro de las 24 horas a 2-6 °C.

**Ventajas:** Contiene factores lábiles I, V, VIII y factores estables II, VII, IX, X de la coagulación. Importante en el tratamiento de deficiencia de antitrombina III.

**Desventaja:** Una vez descongelado, debe transfundirse apenas obtenga la temperatura ambiental; si esta conservada en refrigeración, puede usarse dentro de las 12/24 horas ya que existe una disminución de los factores termolábiles de coagulación. (Comisión de transfusión 2002 Hospital Universitario Marqués de Valdecilla).

**Figura N° 21: Concentrado glóbulos rojos, plasma fresco congelado, plaquetas.**



Fuente: (Hemoped, 2011)

## **2.2.36. Reacciones transfusionales.**

### *2.2.36.1. Reacciones transfusionales inmediatas.*

La gran mayoría de este tipo de reacción se debe al error humano en la identificación del receptor correcto ya que involucra incompatibilidad ABO. Su incidencia es muy baja, aproximadamente de 1 en 100.000 unidades transfundidas. Un 20 % de estas equivocaciones, se producen en el momento de la toma de muestra e identificación del tubo del paciente, por lo cual cobra importancia el recontrol del grupo sanguíneo previo a administrar la transfusión.

### *2.2.36.2. Presentación clínica.*

Esta se correlaciona con la velocidad e intensidad de la hemólisis intravascular. Entonces, el volumen de sangre o glóbulos incompatibles transfundidos es importante para determinar la gravedad y el pronóstico de la reacción.

La sintomatología se inicia generalmente a los pocos minutos de iniciada la transfusión con calor y dolor local en zonal de infusión, disnea, lumbalgia, sensación febril y calofríos, náuseas y en ocasiones vómitos. Los signos se expresan por alza térmica (sobre 38,5 °C), hipotensión arterial, hemoglobinemia, oliguria en etapas más tardías.

### *2.2.36.3. Diagnóstico.*

Cuando se sospecha este tipo de reacción la transfusión debe detenerse de inmediato y mantener vía venosa con solución cristaloides. Debe darse aviso de inmediato al Banco de Sangre para que inicie investigación de la reacción enviando además la bolsa causante de la reacción y una muestra postransfusional del paciente.

El simple diagnóstico de hemólisis intravascular puede hacerse tomando una muestra de sangre y post centrifugación se observa un color rosado en plasma o suero sobrenadante. También el color de la orina cambia en presencia de hemoglobinuria.

#### 2.2.36.4. *Tratamiento.*

De acuerdo a la gravedad de la reacción y volumen de eritrocitos incompatibles transfundidos se debería evaluar traslado a la unidad de terapia intensiva, para ser monitorizado permanentemente.

Lo más importante en las primeras etapas es manejar la hipotensión que puede comprometer la reducción de flujo sanguíneo renal y desarrollo de oliguria. Se debe asegurar un generoso aporte de cristaloides acompañados de diuréticos como furosemida y manitol. En general pueden encontrarse elementos de laboratorio de CID, sin evidencias clínicas por lo que la necesidad de heparinización es discutible. Todo este manejo debe ser realizado bajo supervisión de médico intensivista y por equipo multidisciplinario.

#### **2.2.37. Reacciones transfusionales tardías.**

Se define como aquella en la cual la hemólisis se produce entre 3 y 13 días post transfusión. Se explica por el desarrollo de una respuesta inmune secundaria a antígenos eritrocitarios. La aparición de una anemia inexplicada o ictericia después de días de haber recibido una transfusión debe hacer pensar en una reacción hemolítica tardía.

##### 2.2.37.1. Diagnóstico.

Sospecha ante desarrollo de anemia. Al haber hemólisis extravascular se produce aumento de bilirrubina. El test de antiglobulina directa será positivo en la medida en que no se haya hemolizado esa población eritrocitaria. El examen de la muestra post transfusional permite detectar el aloanticuerpo causal. (Test de antiglobulina indirecto positivo).

##### 2.2.37.2. Tratamiento y prevención.

Una vez hecho el diagnóstico e identificado el anticuerpo causal las siguientes unidades a transfundir deberán ser antígeno-negativo.



### **2.2.38. Reacción transfusional febril no hemolítica.**

Esta es la más frecuente de las RAT. Su incidencia es de 0.5 %, y aumenta en pacientes poli transfundidos.

#### **2.2.38.1. Diagnóstico.**

Los síntomas de calofríos y fiebre pueden producirse durante o después de varias horas de finalizar la transfusión. Los calofríos en general preceden a alza térmica de al menos 1 °C. Estas reacciones no poseen la gravedad de una reacción hemolítica, pero son muy molestas para el paciente. Se debe a la presencia de anticuerpos anti leucocitarios en el receptor que reaccionan con los leucocitos del donante. Generalmente están involucrados antígenos HLA y de granulocitos.

#### **2.2.38.2. Tratamiento y prevención.**

La transfusión debe detenerse de inmediato hasta descartar que estas manifestaciones correspondan al inicio de una reacción hemolítica. Mantener vía permeable con solución fisiológica. Administrar antipirético. Si el cuadro cede y se demuestra que paciente es politransfundido se indicarán ahora productos pobres en leucocitos con el fin de evitar esta reacción. Esto se realiza filtrando la unidad de sangre o glóbulos rojos mediante un filtro adhoc. Este puede reducir la carga leucocitaria inicial de  $2 - 3 \times 10^9$  a menos de  $3 \times 10^6$ .

### **2.2.39. Reacciones transfusional anafiláctica.**

El rash urticarial, es una de las reacciones frecuentes a la administración de sangre y plasma. El eritema activo y el prurito pueden ser manejados con antihistamínicos suspendiendo momentáneamente la transfusión. Se ha involucrado como elemento patogénico el desarrollo de anticuerpos contra la IgA de clase IgG. Además de esta reacción, personas deficientes en IgA pueden manifestar una reacción anafiláctica severa (Shock) y se recomienda que reciban componentes de donantes deficientes en IgA, o se deberán utilizar componentes lavados con el fin de remover la IgA del plasma.

## 2.2.40. Técnica para la identificación del grupo sanguíneo ABO.

### 2.2.40.1. *Fundamento.*

La determinación de grupos sanguíneos del sistema ABO se efectúa enfrentando los hematíes problema con reactivos de especificidad conocida anti A, anti B, anti A+B. La aglutinación o no de los hematíes ensayados frente a cada uno de los reactivos, es indicativa de la presencia o ausencia de los correspondientes antígenos. Los reactivos del grupaje sanguíneo preparados con anticuerpos monoclonales tienen la ventaja adicional de una identidad constante y una reproducibilidad absoluta de su especificidad.

**Figura N° 22: Reactivos para tipificación sanguínea.**



Fuente: (Moscaro insumos, 2005).

### 2.2.40.2. *Almacenamiento y estabilidad.*

Todos estos reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8 °C y se evita la contaminación durante su uso. No usar los reactivos una vez caducados.

No congelar o exponer el reactivo a altas temperaturas. La conservación del producto a temperatura distinta de la recomendada acelera la pérdida de reactividad de producto.

Estos reactivos deben ser claros y transparentes. La presencia de turbidez puede indicar contaminación microbiana. Descartar el contenido del vial, en caso de turbidez, rotura o pérdida de contenido.

#### **2.2.41. Reactivos para la tipificación de anticuerpos.**

Estos reactivos son anticuerpos monoclonales dirigidos contra las sustancias A, B o D. Estas sustancias están en la superficie de los eritrocitos y tienen naturaleza polisacárida.

**Figura N° 23: Reactivos para tipificación de anticuerpos.**



Fuente: (Moscaro insumos, 2005)

Una persona cuyo grupo sanguíneo es A tiene a la sustancia A en la superficie de sus eritrocitos y cuando a sus eritrocitos le agregas el reactivo A, los anticuerpos reconocen a la sustancia A y provocan la aglutinación.

Si la persona es AB tiene tanto la sustancia A como la sustancia B en la superficie de sus eritrocitos, entonces reaccionarán con el reactivo A y el reactivo B.

En el caso de la sustancia D está se encuentra en las personas Rh+, si la persona no tiene esta sustancia en la superficie de los eritrocitos es Rh-.

En suma, estos reactivos son anticuerpos dirigidos contra diferentes sustancias, que al reconocerlas en la superficie de sus eritrocitos provocan su aglutinación ya que forman una especie de red porque el anticuerpo tiene dos brazos, así un anticuerpo puede tomar con una brazo a un eritrocito y con otro a otro eritrocito.

## **2.2.42. Técnicas para la identificación de antígenos ABO.**

### *2.2.42.1. Determinación ABO.*

Requerimientos:

- Sueros comerciales Anti- A, Anti-B, Anti-AB.
- Glóbulos rojos al 5 %.
- Tubos de 12 x 75 mm.
- Solución salina.
- Pipetas Pasteur.
- Lámpara.
- Centrifuga.

Muestra requerida:

- Sangre del donante (Unidades a transfundir ).
- Sangre del receptor o paciente.

Técnica:

- Colocar una gota de Anti-A en un tubo limpio y rotularlo.
- Colocar una gota de Anti-B en un segundo tubo limpio y rotulado.
- Colocar una gota de Anti-AB en un tercer tubo limpio y rotularlo.
- Colocar una gota de SSI en un cuarto tubo limpio y rotulado.
- Añadir a c/tubo una gota de GR al 5% en SSI.
- Mezclar suavemente el contenido de los tubos y centrifugarlos durante 15 a 30 segundos a 3500 rpm.

- Re suspender suavemente los sedimentos de los hematíes y examinar la aglutinación.
- Anotar los resultados de la prueba.

Reporte de resultados:

La aglutinación de hematíes con antisueros específicos es interpretada como positivo e indica la presencia del antígeno correspondiente. Si no hay aglutinación produce un resultado negativo (0) indicando que el antígeno correspondiente no se encuentra.

### **2.2.43. Técnicas para la identificación de anticuerpos ABO.**

#### *2.2.43.1. Prueba sérica inversa o reversa.*

Principio: El grupo inverso está basado en la presencia o ausencia de anticuerpos anti-a y anti-b en suero. Si hay anticuerpos en el suero esto se puede evidenciar enfrentando células que expresen los antígenos A o B.

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

Requerimientos:

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

Técnica:

- Colocar una gota de hematíes reactivos del grupo A1 en un tubo limpio y rotulado.

- Colocar una gota de hematíes reactivos del grupo B en un segundo tubo limpio y rotulado.
- Colocar una gota de hematíes del grupo O en un tercer tubo limpio y rotulado.
- Añadir a cada tubo dos gotas de suero problema.
- Mezclar suavemente el contenido de los tubos y centrifugar 15-20 segundos con 3500 rpm.
- Re suspender suavemente el botón celular y examinar buscando aglutinación.
- Anotar los resultados de la prueba.

Reporte de resultados:

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

#### *2.2.44. Discrepancia de resultados directos e inversos.*

Cuando los resultados del globular y el sérico no coinciden la discrepancia debe ser investigada. Si la sangre es de un donante no se debe transfundir mientras la discrepancia no se haya resuelto.

Si es de un receptor y necesita transfusión puede prepararse sangre de grupo O del correspondiente Rh (positivo o negativo) y transfundirse antes que se complete la investigación.

Es importante conseguir suficiente sangre del receptor antes de la transfusión y así evitar con sangre mezclada. Carece de valor si ya fue transfundido.

##### *2.2.44.1. Pruebas globulares adicionales.*

- Repetir grupo directo con hematíes lavados al 5 %. Se debe incluir reactivo anti-AB, lectina A1 o lectina H.
- Realizar un Coombs directo.

#### 2.2.44.2. *Pruebas séricas adicionales.*

- El suero se debe enfrentar a hematíes A1, A2, B y O. Debe correrse un autocontrol.
- Se puede incubar a 4°C durante 30 minutos. Incluir autocontrol, antes de concluir que el resultado es negativo. El autocontrol y los hematíes O previenen la mala interpretación de reacciones positivas debido a auto o aloanticuerpos fríos reactivos a temperaturas bajas.
- El anticuerpo anti-A1 aglutina hematíes A1 pero no A2 ni O. el anticuerpo anti-A si aglutina al A1 y A2. Son anticuerpos de tipo IgM. Algunas veces causa pruebas cruzadas incompatibles. El anticuerpo es reactivo a 25°C. los anticuerpos que reaccionan a 30°C pueden destruir hematíes A1 in vivo. Existen algunos casos de anti-A1 de tipo IgG. Solo se debe transfundir sangre A2 u O a receptores portadores de anti-A1.
- El sérico puede demostrar anticuerpos irregulares no ABO. Se debe realizar una detección e identificación de anticuerpos.
- Anticuerpos débiles o faltantes, en hipo o gamma globulimienias los iso anticuerpos pueden estar débiles como ausentes. En recién nacidos generalmente no se detectan. Disminuye el título de anticuerpos en ancianos o en pacientes con inmunocomprometidos.

#### 2.2.44.3. *Limitaciones.*

El grupo inverso debe ser manejado con el grupo globular directo. Por si solo esta prueba no es definitivo para determinar el grupo ABO. El grupo inverso hecho de sangre de cordón o el suero de infantes pueden dar resultados equívocos hasta aproximadamente los 6 meses de edad.

Los anticuerpos encontrados antes de esta edad generalmente son de origen materno. Reacciones débiles debido a bajo título de anticuerpos A o B en (iso aglutininas) pueden ser observados en pacientes ancianos o con desordenes inmunes. (Aguirre & Buenaño, 2012, págs. 23-26)

#### **2.2.45. Relación de la identificación de aloanticuerpos con la reacción transfusional.**

Aloanticuerpos la presencia de aloanticuerpos frente a los antígenos eritrocitarios exige que para efectuar una transfusión se elija una sangre negativa con respecto al antígeno específico presente. La identificación de aloanticuerpos y la selección de sangre compatible es una de las principales funciones de un servicio de transfusiones. Los aloanticuerpos para los eritrocitos pueden ser:

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

Algunos anticuerpos presentes naturalmente aparecen de forma regular en personas que carecen del antígeno correspondiente, como el Anti- A en el grupo B, en Anti-B en el grupo A, el Anti-AB en el grupo O.

#### **2.2.46. Control de calidad en el laboratorio de inmunohematología.**

En el área de trabajo no deben consumir bebidas ni alimentos, no se debe fumar ni guardar alimentos en los muebles, refrigerantes o congeladores del laboratorio, ni maquillarse. Si deben ingresar visitantes al laboratorio, estos deberán usar un mandil desechable destinado para el efecto.

En el laboratorio existirán siempre dos basureros, uno recubierto con bolsa negra para desechos comunes y otro con bolsa roja para desechos contaminados con sangre con un rotulo de bio peligroso.

Las agujas de jeringuillas, capilares, tubos de vidrio roto placas de vidrio, palillos, aplicadores, agujas peri craneales, los mismos que deberán ser llenados hasta las  $\frac{3}{4}$  partes para luego ser llenados de hipoclorito de sodio al 10 % y un rotulo explicativo.



El material de cristal reutilizable en el laboratorio será colocado en recipientes plásticos de boca ancha conteniendo agua con detergente líquido, los cuales deben llenarse hasta las  $\frac{3}{4}$  partes, luego se pondrá hipoclorito de sodio al 10 % por unos 20 minutos antes de proceder a su lavado.

Los segmentos de mangueras de las bolsas de extracción de sangre, usados para las pruebas de compatibilidad deberán ser puestas en recipientes de boca ancha los cuales deben llenarse hasta las  $\frac{3}{4}$  partes, luego serán cubiertas con hipoclorito de sodio al 10 % mínimo 20 minutos, luego se sellaran herméticamente y se llevaran al acopio final.

Estos segmentos serán desechados una vez cumplidos los 7 días requeridos para investigación de reacciones transfusionales en el receptor. Si ocurre un derrame de sangre, plasma o suero en las mesas de trabajo o en el suelo, se procederá de la siguiente manera: la persona de turno, debidamente protegida, deberá limpiar (con material absorbente, papel o gasa) el líquido derramado y desecharlo en la bolsa roja.

#### **2.2.46.1.** *Errores de origen técnico.*

**Los reactivos:** Los problemas pueden deberse, a la caducidad de los reactivos. Su alteración por almacenamiento en condiciones poco idóneas. Es necesario realizar un control de la reactividad de los mismos con una o más muestras conocidas.

**Las muestras:** La calidad de las muestras puede verse afectada por las técnicas de extracción y de conservación.

**El equipo:** Los instrumentos empleados pueden ser defectuosos.

**Los métodos:** Pueden surgir errores debidos, entre otras cosas, a prácticas inadecuadas o a no seguir las instrucciones del fabricante de los reactivos usados. El uso sistemático de controles conocidos en conexión con todas las técnicas aplicadas, alertará sobre cualquier problema técnico.

Además, es conveniente recordar aquí la enorme importancia de determinar siempre el grupo hemático y sérico al que pertenece toda muestra como mecanismo para garantizar la correcta identificación del grupo ABO.

#### **2.2.46.2.**      *La calidad de los reactivos.*

Todos los centros adquieren los reactivos que van a utilizar después de comprobar que cumplen sus expectativas técnicas. Ello no significa, no obstante, que no deban someterse a controles sistemáticos, que deben abarcar:

- El registro, en el momento de la recepción de los reactivos, de que las condiciones de embalaje, temperatura y caducidad son adecuadas.
- La evaluación de cada lote en el laboratorio antes de usarlo.
- El control de las condiciones de almacenamiento.
- El cumplimiento de las instrucciones del fabricante para garantizar resultados correctos.
- El análisis diario de controles internos apropiados para garantizar la corrección y repetitividad de los resultados.
- Cualquier error o problema debe ser convenientemente registrado y comunicado.

#### **2.2.46.3.**      *La calidad de las técnicas.*

Todos los procedimientos de trabajo deben estar escritos con claridad y concisión y, una vez que estén aprobados, deberán colocarse en un lugar de fácil acceso para que el personal pueda consultarlos.

Nadie puede practicar las técnicas de una forma distinta de la aprobada y no hay que olvidar que la mayoría de los errores que se cometen se pueden evitar si se siguen las normas. Es preciso:

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

**2.2.46.4.**      *La calidad de los instrumentos.*

El equipo que contiene un laboratorio debe ser el adecuado para el uso al que está destinado. Para garantizar su correcto funcionamiento es necesario cumplir las siguientes normas:

**2.2.46.5.**      *Control de la calidad de los reactivos. Solución de baja fuerza iónica (LISS).*

Parámetros que se deben controlar:

- Requisitos cualitativos.
- Frecuencia de los controles.
- Apariencia.
- pH.
- Conductividad.
- Ausencia de turbidez o partículas detectables por examen visual 6,7 (6,5 a 7) 3,7 ms/cm (3,44 a 3,75) a 23 °C.

**2.2.46.6.**      *Control de la calidad de los reactivos. Hematíes.*

Parámetros que se deben controlar:

- Requisitos cualitativos.
- Frecuencia de los controles.
- Apariencia.
- Reactividad y especificidad.
- Ausencia de turbidez o hemólisis en el sobrenadante.
- Reacciones claras con sueros seleccionados frente a los antígenos eritrocitarios.
- Diaria cada nuevo lote, el primero y último día de vida.

**2.2.46.7.**      *Control de calidad de los reactivos sueros ABO.*

Parámetros que se deben controlar:

- Requisitos cualitativos.
- Frecuencia de los controles.
- Apariencia.
- Reactividad y especificidad.
- Potencia.
- Ausencia de hemólisis, precipitación, partículas, o formación de gel detectables mediante examen visual.
- Ausencia de hemólisis inmune, formación de *Rouleaux* o fenómeno de prozona.
- Reacciones claras con los hematíes portadores del antígeno correspondiente.
- El suero no diluido debe producir una reacción de 3+ a 4+ en medio salino con hematíes al 3 % a temperatura ambiente.

- Su titulación debe ser de 1/128 para al anti-A, anti-B, y anti-AB con hematíes A1 y B, y de 1/64 con hematíes A2 y A2B.

**2.2.46.8.**      *Control de calidad de los reactivos. Sueros RH.*

Parámetros que se deben controlar:

- Requisitos cualitativos.
- Frecuencia de los controles.
- Apariencia.
- Reactividad y especificidad.
- Potencia.
- Lo mismo que para los sueros ABO.
- El suero sin diluir debe dar una reacción de 3+ a 4+ en el test diseñado para cada suero.
- Titulación de 1/16 para anti-D, anti-C, anti-E, anti-c, anti-e y anti-CDE, utilizando hematíes R1 r, R2 r, r' r, o r" r.

**2.2.46.9.**      *Control de calidad de los reactivos. Suero antiglobulina humana (polivalente).*

Parámetros que se deben controlar:

- Requisitos cualitativos.
- Frecuencia de los controles.
- Apariencia.
- Reactividad y especificidad.

- Ausencia de turbidez, precipitado, partículas o formación de gel en el examen visual.
- Ausencia de actividad aglutinante o hemolítica de los hematíes no sensibilizados de cualquier grupo ABO.
- Aglutinación de hematíes sensibilizados con un suero anti-D que contenga una actividad de anticuerpos < 10 ng/ML.
- Aglutinación de hematíes sensibilizados por un suero que fije complemento (p.ej. anti-Jka ), a un título más elevado en presencia que en ausencia de complemento
- Aglutinación de hematíes recubiertos de C3b y C3d y aglutinación débil o nula con hematíes recubiertos de C4b y C4d.
- Calidad de los análisis inmunohematológicos por la empresa que lo suministró y puede ser anual o no, según la actividad a la que esté sometido el aparato.
- En el caso de los sistemas informáticos se establecerán procedimientos de verificación y control. (Aguirre & Buenaño, 2012, págs. 32-35).

### 2.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS.

**Aglutinación:** Agrupamiento de una suspensión de partículas al reaccionar el Ag presente con su Ac específico. In vivo estas partículas son hematíes. In vitro pueden ser los propios hematíes o partículas inertes como látex, bentonita, carbón vegetal.

**Alloinmunización:** Respuesta inmune en la cual en presencia de antígenos extraños, el organismo produce anticuerpos.

**Anti globulina humana:** Reactivo combinado por una mezcla de anti-IgG humana policlonal y C3d monoclonal.

**Anticuerpo monoclonal:** Son anticuerpos idénticos porque son producidos por un solo tipo de célula del sistema inmune, es decir, todos los clones proceden de una sola célula madre.

**Anticuerpo natural:** Anticuerpo que aparece en el torrente sanguíneo en ausencia de estimulación antigénica conocida.

**Anticuerpo policlonal:** Son anticuerpos derivados de diferentes líneas de células B, los linfocitos encargados de la respuesta ante elementos ajenos (antígenos) mediante anticuerpos. Una mezcla de inmuno globulina, secretados en contra de una antígeno específico, cada una reconociendo diferentes epítopes.

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

**Antisuero:** Suero de un animal preparado por inyecciones de un suero extraño, que desempeña el papel de antígeno.

**Autoanticuerpos:** Son anticuerpos generados por un individuo dirigidos contra antígenos de los tejidos del propio individuo.

**Bioseguridad:** Es la prevención del riesgo biológico aplicado al entorno de la unidad de medicina transfusional. Se aplica al personal, donante o paciente.

**Complemento:** Conjunto de proteínas especialmente en un total de 30 se producen cuando hay una reacción Ag-Ac.

**Especificidad:** El anticuerpo va a unirse a un antígeno específico a nivel del grupo sanguíneo.

**Estímulo antigénico:** Capacidad de producir cambios o modificaciones en el medio ambiente situado alrededor de un organismo a causa de un antígeno.

**Fuerza iónica:** Función de la concentración de todos los iones presentes en ella.

**Globulina: Proteína sérica de la que se derivan los anticuerpos.**

**Glucoproteína:** Proteína formada por aminoácidos y un grupo prostético constituido por glúcidos. Las glucoproteínas son frecuentes en las membranas celulares en forma de hormonas y anticuerpos.

**Hemoderivados:** Los productos obtenidos mediante procesos industriales para aplicación terapéutica, diagnóstica, preventiva o en investigación.

**Hemodilución:** Es una técnica de obtención de sangre autóloga empleada en el laboratorio inmediato por el cual la extracción de una o dos unidades de sangre.

**Hemolisina: Anticuerpo que se combina con el complemento y destruye (hemoliza) los glóbulos rojos portadores del antígeno correspondiente.**

**Inmunógeno:** Sustancia u organismo capaz de provocar una respuesta inmune.

**Linfocitos:** Célula linfática (se fabrican por células linfoides presentes en la médula ósea y que posteriormente migran a órganos linfoides como el timo, ganglios linfáticos y bazo, constituyen el 99% de las células linfáticas), que es un tipo de leucocito (glóbulo blanco) comprendido dentro de los agranulocitos.

**Medio de reacción:** Son los que facilitan la formación de Ag-Ac, medio apropiado para que se dé una reacción. Tiene como función formar complejos Ags-Acs.

**Peptidoglucano:** Es un copolímero formado por una secuencia alternante de N-acetil-glucosamina y el Ácido N-acetilmurámico unidos mediante enlaces  $\beta$ -1,4. El peptidoglucano es muy resistente y protege a las bacterias de una ruptura osmótica en ambientes acuáticos y da a los tipos diferentes de bacterias sus formas.

**Potencial Z:** Es una fuerza dispersora. En otras palabras es la medida de la fuerza eléctrica que existe entre átomos, moléculas, partículas y células en un líquido. En los seres vivos esto evita la coagulación extravascular.



**Prueba de antiglobulina humana (prueba de Coombs):** Ensayo de aglutinación en el que se emplean anticuerpos contra la gammaglobulina humana, que permite demostrar la presencia o ausencia de anticuerpos adheridos a un antígeno de la membrana del eritrocito.

**Prueba de Coombs directo (o Coombs directo):** Análisis que permite identificar anticuerpos, complemento o ambos, adheridos a la membrana del eritrocito o a otras células, mediante el uso de anticuerpos contra la gammaglobulina humana (suero de Coombs)

**Reacción in vivo:** Se da por la invasión de Ag reconocidos como extraños hacia el organismo por medio de la cual reaccionan al unirse al Ac específico.

**Reacción transfusional:** Efectos no deseados durante o después de una transfusión de sangre o derivados.

**Reactivo de anti globulina humana (Coombs):** Producto empleado para la detección de globulinas humanas adheridas a los eritrocitos y a otras células humanas. El poli específico, también detecta actividad de complemento humano (C3d y C3b).

**Sensibilización:** Reacción en la cual se desarrollan anticuerpos específicos en respuesta a un antígeno.

## 2.4. HIPÓTESIS Y VARIABLES.

### 2.4.1. Hipótesis.

**H<sub>i</sub>:** Se puede prevenir incompatibilidades sanguíneas por administración de paquetes globulares iso grupos, al identificar previamente aloanticuerpos, mediante la técnica de la tipificación sanguínea inversa.

## 2.4.2. Variables.

### 2.4.2.1. Variable independiente.

- Identificación de anticuerpos ABO.

### 2.4.2.2. Variable dependiente.

- Prevención de incompatibilidades sanguíneas.

## 2.5. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.

VARIABLE	CONCEPTO	CATEGORIA	INDICADORES	TÉCNICAS E INST.
Independiente:  <b>Identificación de anticuerpos ABO.</b>	Son inmunoglobulinas, procedentes de individuos de una misma especie, pero diferentes genéticamente	Tipificación sanguínea directa e inversa.	Reacción de hemaglutinación positiva o negativa, interpretada por cruces.	Guía de observación  Intensidad de reacción medida en la lámpara de luz blanca.  Técnica para la identificación de anticuerpos ABO mediante la práctica de tipificación sanguínea inversa.

<b>Prevencción de incompatibilidades sanguíneas.</b>	<b>Dependiente:</b>	<p>Manifestaciones que proceden de la carga antigénica dirigida a un anticuerpo específico, y que provocan alteraciones inmunológicas por administración de sangre y sus derivados.</p>	<p>Reacciones transfusionales inmediatas o tardías</p>	<p>Manifestaciones clínicas.</p> <p>Inmediata: Disnea, fiebre, lumbalgia, náuseas.</p> <p>Tardía: desarrollo de anemia, aumento de bilirrubina.</p>	<p>Guía de observación.</p> <p>Formato de reporte de reacciones transfusionales, Coombs directo positivo.</p> <p>Hemovigilancia</p>
--	---------------------	---	--	---	---

### 2.5.1. Comprobación de la hipótesis.

Con la realización de la prueba de tipificación inversa, se pudo detectar la presencia de alo anticuerpos que forman parte de la estructura del sistema de grupo sanguíneo ABO.

Además se pudo prevenir incompatibilidades transfusionales, gracias a que esta prueba, también detecta anticuerpos inespecíficos en este sistema; por ejemplo, la presencia de anticuerpos anti-A1 en pacientes del grupo A2 y A2B, que en ensayos reaccionaban al enfrentarlos con la sangre A1 y A1B.

## CAPÍTULO III

### 3. MARCO METODOLÓGICO.

#### 3.1. MÉTODOS.

**Método científico:** Es un proceso destinado a explicar que la identificación de anticuerpos ABO mediante el ensayo de tipificación sanguínea, tiene relación en la prevención de incompatibilidades sanguíneas y poder así, enunciar leyes que expliquen este fenómeno químico que afecta a los pacientes atendidos en el servicio de medicina transfusional.

**Método deductivo-inductivo:** Utilizamos este método ya que nos ayudó al estudio de cada uno de los casos de incompatibilidades de los pacientes para obtener resultados generales que nos lleva a sacar conclusiones particulares de nuestro tema de investigación.

**Método explicativo:** Manifestamos las causas y consecuencias de nuestro tema de estudio.

**Método sintético:** Nos permitió unificar todos los conceptos y los diversos elementos para formular una teoría.

**Método analítico:** Analizamos la identificación de anticuerpos ABO mediante el ensayo de tipificación sanguínea tanto como del donador como del receptor de los paquetes globulares iso grupos.

#### 3.1.1. Tipo de investigación.

**Descriptiva:** Porque una vez que se realizó el primer estudio profundo de la problemática a investigarse se describirá con fundamentos de causa y consecuencia.

**Explicativa:** Porque sobre la base del procedimiento de la información recopilación de textos, libros, folletos, se llegara a establecer las causas y consecuencias de incompatibilidades por administración de hemocomponentes iso grupos

### **3.1.2. Diseño de investigación.**

**Documental:** Porque recopilamos información de libros, sitios web, manuales, protocolos, revistas, que aplicamos a nuestro tema de investigación para cumplir los objetivos del mismo, definiendo, explicando e investigando las variables (Identificación de anticuerpos ABO y la prevención de incompatibilidades sanguíneas). Las variables son el camino que debe seguir la investigación, tanto en lo documental-bibliográfico, como en el campo.

**De campo:** Debido a que el proceso investigativo se llevó a cabo en un lugar específico donde se dan los hechos a investigarse, en este caso en el laboratorio de Inmunohematología del Servicio de Medicina Transfusional del Hospital Provincial General Docente de Riobamba.

### **3.1.3. Tipo de estudio.**

**Transversal:** Ya que se realizó en un lapso de tiempo corto, entre Octubre de 2013 y Marzo de 2014.

## **3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA.**

### **3.2.1 Población.**

La presente investigación estuvo constituida por el total de 177 pacientes a quienes se realizó 1.488 ensayos durante el tiempo planteado en la investigación.

### **3.2.2 Muestra.**

No se extrajo muestra, porque la población fue pequeña; es decir que se trabajó con los 177 pacientes.

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

Los datos se tomaron de los archivos del departamento de medicina transfusional del Hospital General Docente de Riobamba, que se realizaron a los pacientes que necesitaron transfusión durante este período, los cuales fueron instrumentos para realizar esta investigación.

**Técnicas:** Observación, análisis documental y recopilación bibliográfica.

**Instrumentos:** Guía de observación, datos de los resultados, tabulación de datos, demostración por cuadros, gráficos y el análisis.

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

Los datos que se obtuvieron en el estudio, fueron ordenados en porcentajes y en promediales-numéricos. Además, fueron representados en tablas y gráficos respectivamente interpretados y procesados en el programa Microsoft Excel, para una mejor interpretación, en el Capítulo IV.

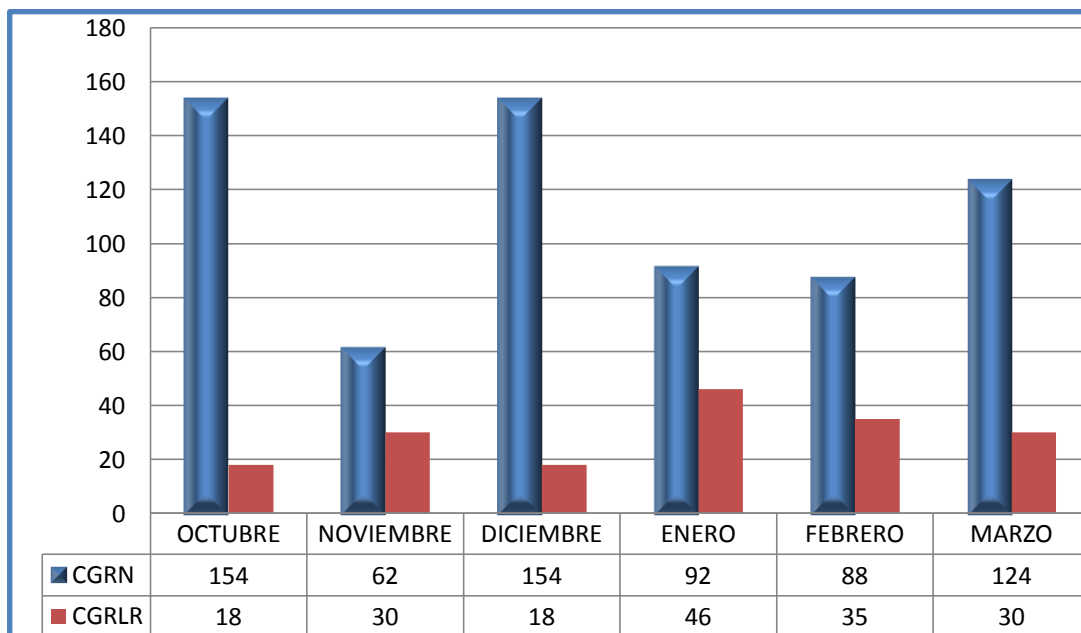
## CAPÍTULO IV

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

**Tabla N° 1: Registro de transfusiones.**

MES	CGRN	CGRLR
<b>OCTUBRE</b>	154	18
<b>NOVIEMBRE</b>	62	30
<b>DICIEMBRE</b>	154	18
<b>ENERO</b>	92	46
<b>FEBRERO</b>	88	35
<b>MARZO</b>	124	30
<b>TOTAL</b>	<b>674</b>	<b>177</b>

**Gráfico N° 1: Registro de transfusiones.**



Fuente: Laboratorio de inmunohematología. SMT - HGDR.  
 Autoras: Angélica Buenaño y Marlene Alarcón.

**Análisis e interpretación:** Para lograr el objetivo de la investigación partimos de la información de registro de hemoderivados transfundidos.

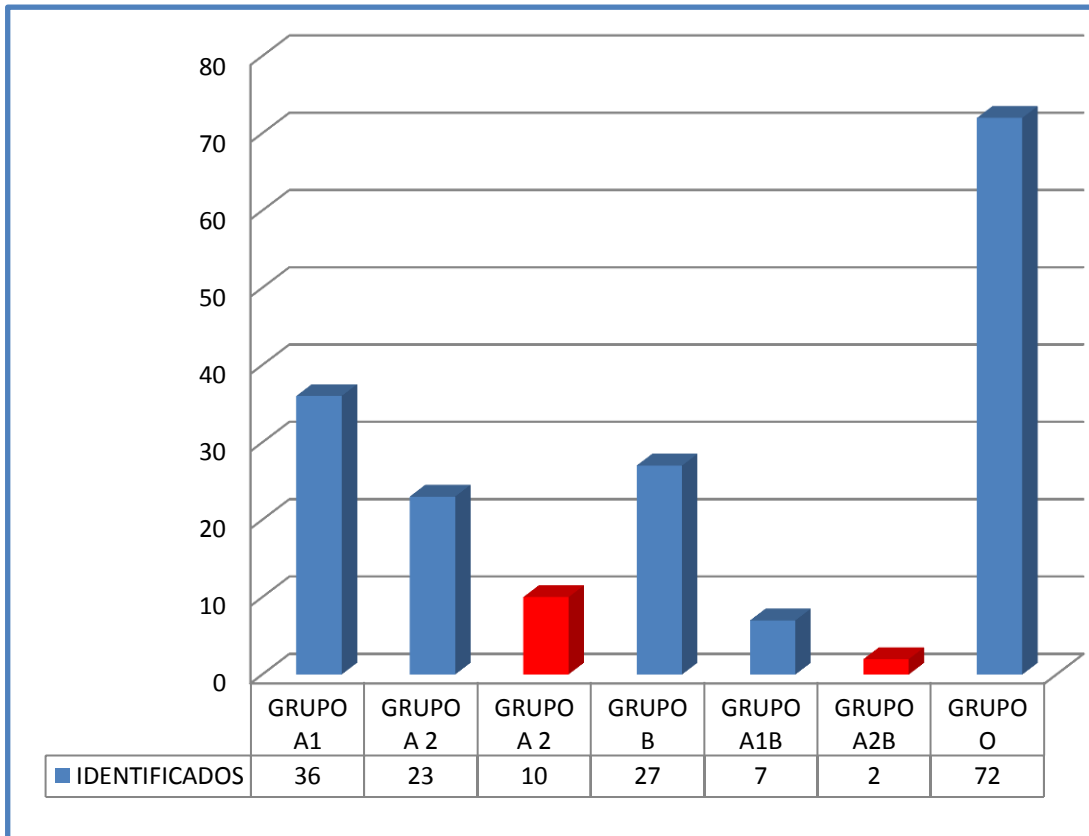
De los hemoderivados CGR y CGRL, se registra un total de 851 hemoderivados hemáticos, el CGR con registro de 674 despachos (79%) es el hemoderivado de mayor frecuencia usado para la transfusión a diferencia del CGRLR con registro de 177 despachos (21%).

**Tabla N° 2: Registro de resultados de la tipificación sanguínea a pacientes grupos A, B y AB.**

<b>GRUPOS</b>	<b>IDENTIFICADOS</b>
<b>GRUPO A1</b>	36
<b>GRUPO A 2</b>	23
<b>GRUPO A 2</b>	10
<b>GRUPO B</b>	27
<b>GRUPO A1B</b>	7
<b>GRUPO A2B</b>	2
<b>GRUPO O</b>	72
<b>TOTAL</b>	<b>177</b>



**Gráfico N° 2: Registro de resultados de la tipificación sanguínea a pacientes grupos A, B y AB.**



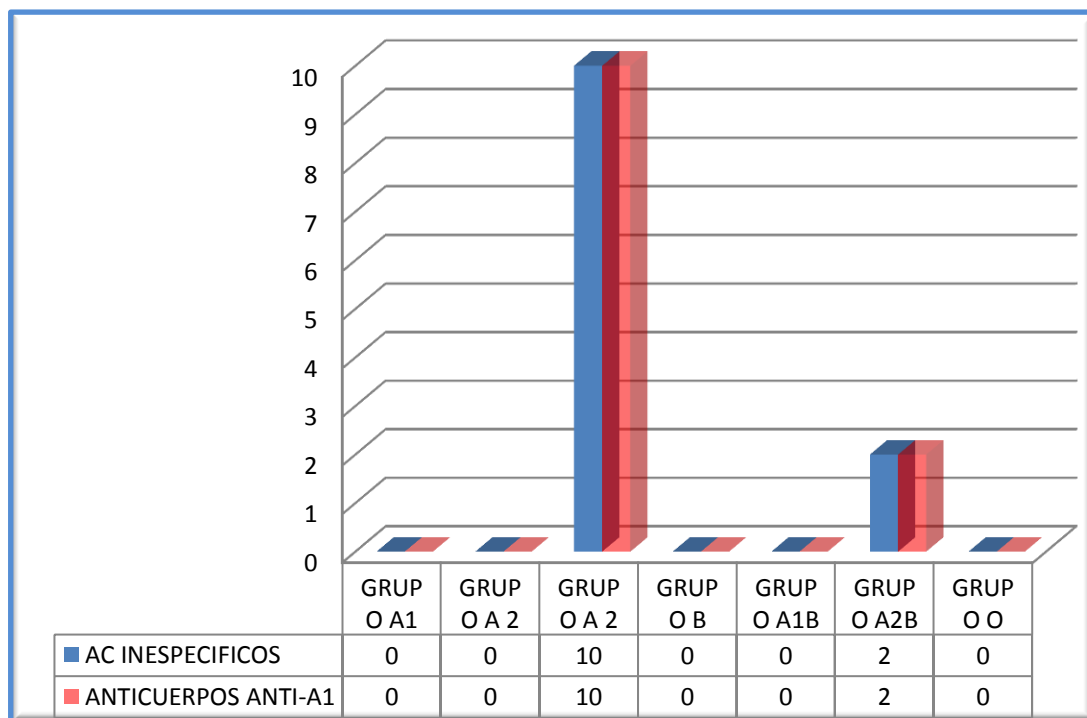
Fuente: Laboratorio de inmunohematología. SMT - HGDR.  
 Autoras: Angélica Buenaño y Marlene Alarcón.

**Análisis e interpretación:** Se identifican a los antígenos y anticuerpos de los grupos de sistema ABO a pacientes transfundidos CGRLR, el grupo sanguíneo de mayor cantidad identificado es el del grupo O positivo con reporte de 72 ensayos, seguido del grupo A1 con reporte de 36 determinaciones, del A2 con reporte de 33 determinaciones, del grupo B con 27 determinaciones, del grupo A1B con 7 determinaciones y del grupo A2B con 2 determinaciones.

**Tabla N° 3: Identificación de anticuerpos inespecíficos mediante la tipificación sanguínea inversa.**

GRUPOS	AC INESPECÍFICOS	ANTICUERPOS ANTI-A1
GRUPO A1	0	0
GRUPO A 2	0	0
GRUPO A 2	10	10
GRUPO B	0	0
GRUPO A1B	0	0
GRUPO A2B	2	2
GRUPO O	0	0
TOTAL	12	12

**Gráfico N° 3: Identificación de anticuerpos inespecíficos mediante la tipificación sanguínea inversa.**



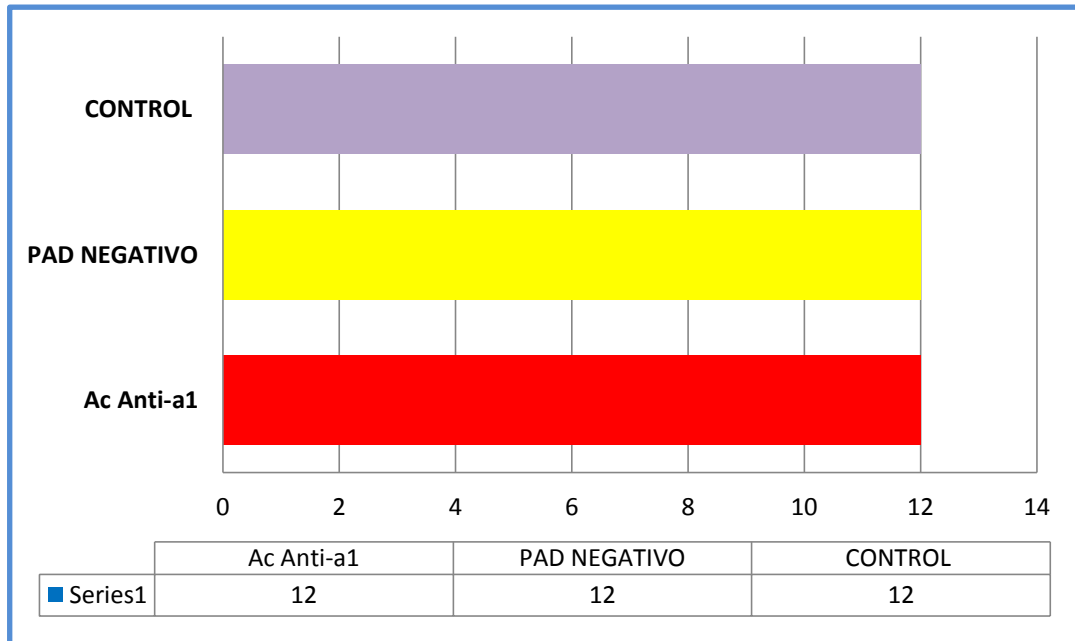
Fuente: Laboratorio de inmunohematología. SMT - HGDR.  
 Autoras: Angélica Buenaño y Marlene Alarcón.

**Análisis e interpretación:** Con la realización de la tipificación sanguínea inversa para identificar anticuerpos del sistema ABO se pudo evaluar la presencia de anticuerpos propios para cada grupo sanguíneo como de anticuerpos inesperados mismos que surgen a causa de estímulos antígenos sea por transfusiones o embarazos. 10 anticuerpos anti A1 se identificaron en pacientes de grupo A2 y 2 anticuerpos anti-A2 en pacientes de grupo A2B, estos anticuerpos no son estructura sérica normal de los grupos sanguíneos identificados.

**Tabla N° 4: Valoración de los resultados de pruebas de Coombs a muestras de pacientes con reporte de anticuerpos inespecíficos del sistema ABO.**

MUESTRA	AC - ABO	PAD	C. CONTROL
1	anti-A1	NEGATIVO	POSITIVO
2	anti-A1	NEGATIVO	POSITIVO
3	anti-A1	NEGATIVO	POSITIVO
4	anti-A1	NEGATIVO	POSITIVO
5	anti-A1	NEGATIVO	POSITIVO
6	anti-A1	NEGATIVO	POSITIVO
7	anti-A1	NEGATIVO	POSITIVO
8	anti-A1	NEGATIVO	POSITIVO
9	anti-A1	NEGATIVO	POSITIVO
10	anti-A1	NEGATIVO	POSITIVO
11	anti-A1	NEGATIVO	POSITIVO
12	anti-A1	NEGATIVO	POSITIVO

**Gráfico N° 4: Valoración de los resultados de pruebas de Coombs a muestras de pacientes con reporte de anticuerpos inespecíficos del sistema ABO.**



Fuente: Laboratorio de inmunohematología. SMT - HGDR.  
 Autoras: Angélica Buenaño y Marlene Alarcón.

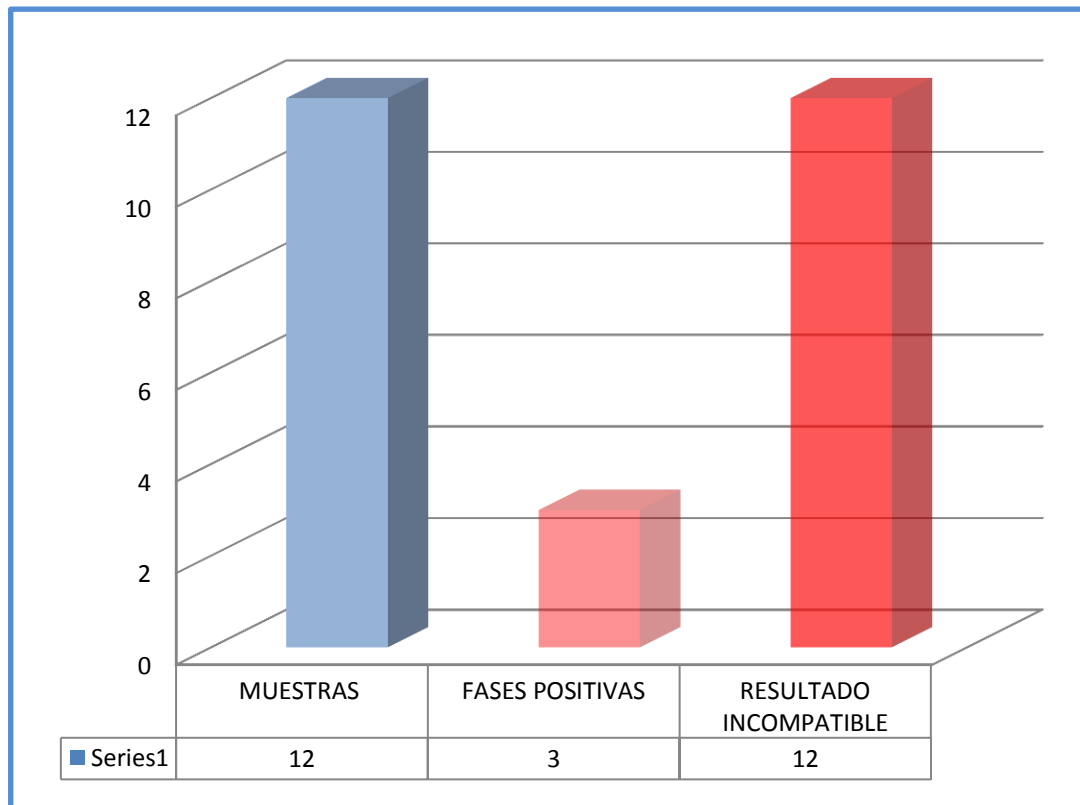
**Análisis e interpretación:** A las muestras de pacientes con resultados de anticuerpos inespecíficos para el sistema ABO, se procede a la realización de la prueba de Coombs directa la cual reporta en sayos negativos, lo que indica que valorar anticuerpos inespecíficos del sistema ABO mediante Coombs con reportes negativos no respalda la presencia de estos anticuerpos que podrían afectar a las transfusiones o gestaciones futuras.

**Tabla N° 5: Demostración de la reacción in vitro por incompatibilidades de anticuerpos ABO.**

MUESTRAS	FASES POSITIVAS	RESULTADO INCOMPATIBLE
12	3	12

Fuente: Laboratorio de inmunohematología. SMT - HGDR.  
 Autoras: Angélica Buenaño y Marlene Alarcón.

**Gráfico N° 5: Demostración de la reacción in vitro por incompatibilidades de anticuerpos ABO.**



Fuente: Laboratorio de inmunohematología. SMT - HGDR.  
Autoras: Angélica Buenaño y Marlene Alarcón.

**Análisis e interpretación:** Los ensayos que demuestran la presencia de anticuerpos anti-A1 fueron sometidos a la prueba de compatibilidad los resultados obtenidos son positivos o incompatibles en sus tres fases: salina Liss y Coombs, lo que indica que transfundir sangre A1 a receptores de pacientes con anticuerpos anti A1 no es factible por la reacción hemolítica que debería presentarse, para estos casos la transfusión será con sangre que carezca del antígeno específico para el anticuerpo del paciente.

## CAPÍTULO V

### 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

#### 5.1. CONCLUSIONES.

➤ 2158 son los registros de los hemoderivados de los despachos, de estos 851 son hemoderivados hemáticos a los que se direccionaron nuestra investigación debido a que en estos componentes sanguíneos contienen antígenos que forman parte estructural de la membrana de los glóbulos rojos, mismos que se estudiaron en el suero o plasma del paciente.

➤ Las pruebas de tipificación sanguínea directa valoran la presencia o ausencia de antígenos al enfrentarlo con antisueros comerciales, mientras que la prueba de tipificación inversa valora la presencia o ausencia de anticuerpos al enfrentarlos con antígenos conocidos.

➤ Las pruebas antiglobulínicas detectan la presencia de anticuerpos anti-globulínicos en los ensayos ABO, su utilidad fue limitada debido a que los reportes denotan negatividad, pudiendo provocar en los pacientes reacciones hemolíticas.

#### 5.2.RECOMENDACIONES.

➤ La utilización de concentrado de glóbulos rojos leucorreducidos, se justifica por diversas patologías que reducen a reacciones transfusionales, sin embargo su utilización es adecuada cuando se requiere como alternativa transfusional en prevención de reacción hemolítica.

➤ Las pruebas de tipificación sanguíneas deben ser validadas sus resultados con la realización de pruebas directas o inversas, con la finalidad de confirmar o descartar a los anticuerpos inespecíficos del sistema ABO.

➤ Las anticuerpos inespecíficos del sistema ABO son detectados con la prueba inversa, siempre y cuando las células utilizadas sean de epítotope A1, A2, B Y O.

## BIBLIOGRAFÍA

- ESTÁNDARES DE TRABAJO PARA BANCOS DE SANGRE (2007) Sangre segura, programa nacional de sangre, República de Bolivia.
- F. RUBIO CAMPAL, M. CARRASCO CARRASCO, BENJAMÍN GARCÍA ESPINOZA (2002) Hematología II y Banco de Sangre. Editorial: Paraninfo Thomson Learning.
- FERNÁNDEZ CORTÉZ A. (2010) Medicina Transfusional. Ed. Kapeluz. Rep. Argentina.
- GARCIA B. (2001) Hematología II. Ed. paraninfo. Madrid. España.
- H. RODRÍGUEZ M., E. QUINTANAR GARCÍA, M. H. MEJÍA ARREGUI (2004) El banco de sangre y la medicina transfusional. Editorial médica panamericana.
- MANUAL DE NORMAS y procedimientos del sistema integrado de vigilancia.
- MANUAL PRÁCTICO para la realización de pruebas inmunohematológicas aplicadas a los servicios de sangre y medicina transfusional (2012) Universidad nacional de Chimborazo.
- PROGRAMA NACIONAL DE CONTROL Y VIGILANCIA DE TRANSFUSIONES SANGUÍNEAS. Buenos Aires 340 y Manuel Larrea Quito-Ecuador.
- RODRÍGUEZ Moncayo (2011) Doctor del banco de sangre y la medicina transfusional.
- ROJAS W. (2004) Inmunología. Corporación para investigación biológica edición.
- SALAZAR M. (2010) Guías para la transfusión de sangre y sus componentes Quito.
- SOCIEDAD CLÍNICA HEMATOLÓGICA. Recomendaciones para el diagnóstico y manejo de las reacciones adversas a la transfusión.

## **SITIOS WEB**

[www.books.google.com.ar/books](http://www.books.google.com.ar/books)

[www.docs.google.com/document](http://www.docs.google.com/document)

[www.elmatraz.wikispaces.com/file/view/Sistemas+sangu%C3%ADneos.pdf](http://www.elmatraz.wikispaces.com/file/view/Sistemas+sangu%C3%ADneos.pdf)

[www.es.scribd.com/doc/169846996/Reaccion-Ag-Ac](http://www.es.scribd.com/doc/169846996/Reaccion-Ag-Ac)

[www.iberovet.cl/inmunologia/index.php?option=com\\_content&view=article&id=20](http://www.iberovet.cl/inmunologia/index.php?option=com_content&view=article&id=20)

[www.mesa6-lab2.blogspot.com/2009\\_03\\_01\\_archive.html](http://www.mesa6-lab2.blogspot.com/2009_03_01_archive.html)

[www.mezzadoz2.blogspot.com/2009/04/resumen-de-antigeno.html](http://www.mezzadoz2.blogspot.com/2009/04/resumen-de-antigeno.html)

[www.monografias.com/trabajos/sangre/shtml](http://www.monografias.com/trabajos/sangre/shtml)

[www.ugr.es/~eianez/inmuno/cap\\_04.htm](http://www.ugr.es/~eianez/inmuno/cap_04.htm)

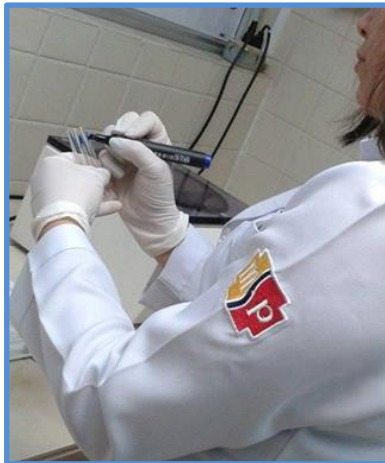


## ANEXOS

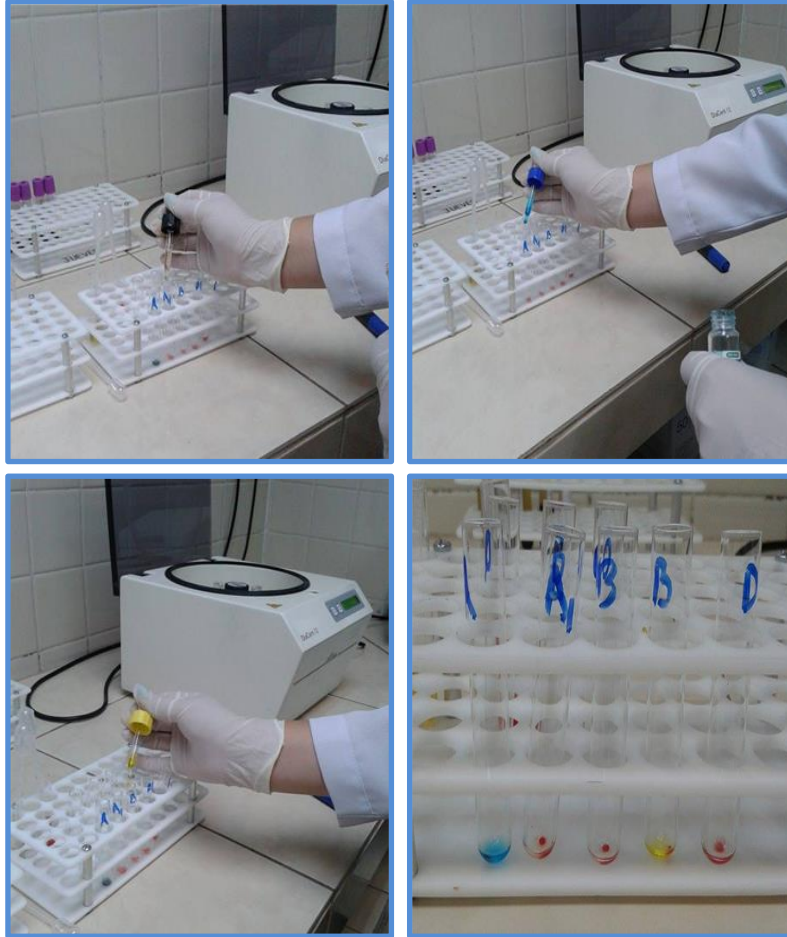
### PREPARACIÓN DE MATERIAL, EQUIPOS Y REACTIVOS.



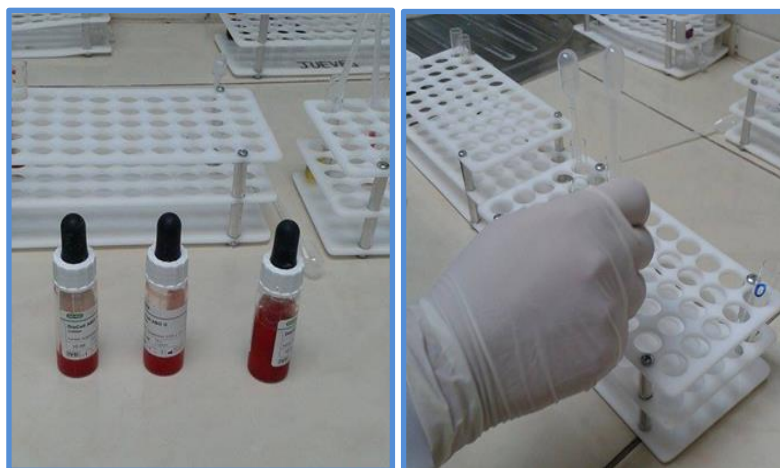
### ROTULACIÓN, LAVADO Y SUSPENSIÓN DE LAS MUESTRAS



## TIPIFICACIÓN SANGUINEA ABO Y RhD DIRECTA



## TIPIFICACIÓN INVERSA



## PRUEBA ANTIGLOBULINICA DIRECTA

