



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO.

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

TEMA

**"APLICACIÓN DEL TEST ANTIGLOBULÍNICO EN LA VALORACIÓN
DE LA REACCIÓN HEMOLÍTICA AL COMPATIBILIZAR HEMATÍES
RhD POSITIVOS TOTALES Y PARCIALES EN USUARIOS
ATENDIDOS EN EL SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL
HOSPITAL PROVINCIAL GENERAL DOCENTE DE RIOBAMBA, EN EL
PERÍODO ABRIL – SEPTIEMBRE DEL AÑO 2015".**

AUTORAS

Ana Lema

María Yuquilema

TUTOR

Lic. Fernando Jaramillo

Riobamba Diciembre del 2015



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E
HISTOPATOLÓGICO

TEMA:

“APLICACIÓN DEL TEST ANTIGLOBULÍNICO EN LA VALORACIÓN DE LA REACCIÓN HEMOLÍTICA AL COMPATIBILIZAR HEMATÍES RhD POSITIVOS TOTALES Y PARCIALES EN USUARIOS ATENDIDOS EN EL SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL HOSPITAL PROVINCIAL GENERAL DOCENTE DE RIOBAMBA, EN EL PERÍODO ABRIL – SEPTIEMBRE DEL AÑO 2015”

Tesina de grado previo a la obtención del título de Licenciadas en Laboratorio Clínico e Histopatológico

APROBADO Y CALIFICADO POR LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL

Nota:.....

PRESIDENTE Lic. Elena Brito

FIRMA.....

MIEMBRO 1 Lic. Fernando Jaramillo

FIRMA.....

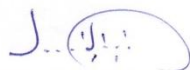
MIEMBRO 2 Lic. Gisnella Cedeño

FIRMA.....

ACEPTACIÓN DEL TUTOR

Por la presente, hago constar que he leído el protocolo del proyecto de grado presentado por las Srtas. María Yuquilema y Ana Lema para optar el título de Licenciadas en Ciencias de la Salud en Laboratorio Clínico e Histopatológico y que acepto asesorar al estudiante en calidad de tutor, durante la etapa del desarrollo del trabajo hasta su presentación y evaluación.

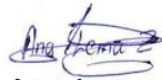
Riobamba, Diciembre del 2015



Lic. FERNANDO JARAMILLO


DERECHO DE AUTORÍA

Nosotras Ana Lema y María Yuquilema somos responsable de las ideas, doctrinas, pensamientos y resultados expuestos en el presente trabajo investigativo y los derechos de autoría pertenecen a la Universidad Nacional de Chimborazo.



Ana Lema

C.I 060550612-0



María Yuquilema

C.I 060302602-2

DEDICATORIA

A Dios por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor. A mi madre Rosa. Por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor. A mi padre Rafael. Por los ejemplos de perseverancia y constancia que lo caracterizan y que me ha infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante y por su amor. A mis hermanos: Julia y Eduardo por ser mi apoyo incondicional en los momentos en los que más lo necesitaba; y a todos aquellos que participaron directa o indirectamente en la elaboración de esta tesis.

María Elena Yuquilema

DEDICATORIA

A Dios, por permitir llegar a este momento tan especial en mi vida. Por los triunfos y los momentos difíciles que me han enseñado a valorarlo cada día más. A mis padres Julio y Gladys por ser las personas que me ha acompañado durante todo mi trayecto estudiantil y de vida. Quienes con sus consejos ha sabido guiarme para culminar mi carrera profesional.

Ana Lema Zambrano

AGRADECIMIENTO

En primer lugar quiero expresar mi agradecimiento a Dios por ser mi guía y protector espiritual guiando mi vida día a día, llenándola de bendiciones expresadas en salud e inteligencia. Mi agradecimiento profundo a mi querida familia por su apoyo incondicional que me impulsa a seguir adelante, por ser mis mejores amigos y ejes fundamentales de mi vida. De manera especial a mi Tutor Lic. Fernando Jaramillo que gracias a sus conocimientos, paciencia y motivación en la guía profesional logramos concluir con éxito esta meta tan anhelada. A las pacientes del servicio de Medicina Transfusional del hospital General Docente por el tiempo aportado para la realización del presente trabajo de Tesis.

María Elena Yuquilema

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer a Dios por darme la vida, por darle salud a mis padres ya que ellos son el pilar fundamental para mi superación, gracias a su apoyo incondicional y consejos he llegado a cumplir la meta más importante en mi vida que es ser profesional que para mí es la herencia más valiosa . Gracias a mis hermanos César y Cristian por su confianza, por ser mi fortaleza para seguirá adelante, no existe manera de agradecerles, más me siento orgullosa de este logro compartido ya que no es solo mío, si no de mi familia.

Ana Lema Zambrano

RESUMEN

El presente trabajo de tesina aplica el test antiglobulínico con el objetivo de valorar la reacción de incompatibilidad en vitro al enfrentar hematíes RhD totales y parciales, en usuarios atendidos en el Servicio de Medicina Transfusional del Hospital Provincial General Docente de Riobamba, la estructura antigénica del grupos sanguíneo Rh es diversa, cinco antígenos componen esta estructura, estos son los de mayor relevancia clínica, los anticuerpos son el resultado del estímulo antigénico, en este trabajo se valora a los anticuerpos del grupo RhD en personas identificadas como D parciales, los que significa que en este tipo de usuarios se genera como parte estructural de este grupo sanguíneo, que al realizar los ensayos de pre transfusión se unen estos elementos y se genera en las pruebas la llamada reacción de aglutinación que de darse en el organismo se traduce como una reacción hemolítica por incompatibilidad transfusional. Los ensayos inmunohematológicos aplicados son la tipificación sanguínea Rh, pruebas de Coombs directa e indirecta, sus resultados son tabulados para generar información de los logros alcanzados en este trabajo investigativo, se afirma la hipótesis planteada logrando detectar la reacción hemolítica y las reacciones en el paciente ante una transfusión de sangre, se emplea el método científico, deductivo e inductivo para este trabajo logrando así los objetivos planteados, se concluye en este trabajo que el empleo de las pruebas de Coombs garantiza la práctica transfusional con el Coombs directo se valora el estado post transfusión ante una práctica transfusional con la prevención de la incompatibilidad, es importante realizar un control de la transfusión por ello la recomendación de aplicar la prueba de Coombs directo sobre todo en pacientes con grupos sanguíneos no frecuentes o especiales en su estructura inmunológica.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CENTRO DE IDIOMAS

ABSTRACT

This thesis work applies the antiglobulin test in order to evaluate the in-vitro incompatibility reaction to face total and partial RhD red cells in users served by the Transfusion Medicine Service of "Hospital Provincial General Docente" from Riobamba, the antigenic structure of groups blood Rh is diverse, five antigens form this structure, these are the most clinically relevant, antibodies are the result of antigenic stimulation, in this work antibodies to RhD group are assessed in people identified as partial D, which means that in this type of user is generated as a structural part of this blood group, that when doing the pre transfusion tests these elements come together and generates test called agglutination reaction that when it occurs in the body it means a hemolytic reaction by incompatible blood transfusion. The immunologic tests applied are Rh blood typing tests, direct and indirect Coombs, the results are tabulated to generate information on achievements in this research work, the hypothesis is stated managing to detect hemolytic reaction and the reactions in the patient before a blood transfusion, scientific, deductive and inductive method for this work and achieving the objectives is used in this paper it concludes that the use of guarantees Coombs test transfusion practice with direct Coombs valued state post transfusion before a transfusion practice in the prevention of incompatibility, it is important to control the transfusion for this reason the recommendation to apply direct Coombs test especially in patients with rare blood groups or special in their immune structure.

Translacion reviewed by:

Lic. Lorena Solís

ENGLISH TEACHER



ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO I	17
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	17
1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.	18
1.3 OBJETIVOS.	18
1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.	19
1.4 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA.....	19
CAPÍTULO II	21
2.1 POSICIONAMIENTO PERSONAL.	21
2.2 FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.	21
2.2.1 PRUEBA DE COOMBS O ANTIGLOBULÍNICA.	21
2.2.1.1 Factores Que Favorecen a la reacción antígeno – anticuerpo.....	22
2.2.1.2 Historia de las pruebas de coombs.....	23
2.2.1.3 Clasificaciones de las pruebas de coombs.	26
2.2.1.4 Técnicas empleadas en la realización de las pruebas de coombs.	30
2.2.1.4.1 Coombs Directo.	31
2.2.1.4.2 Coombs Indirecto.....	33
2.2.2 SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO RH.	36
2.2.2.1 SISTEMA RH.....	36
2.2.2.3 Métodos y técnicas para la determinación de los antígenos del sistema Rh..	45
2.2.3 COMPATIBILIDAD DE MUESTRAS RhD TOTALES Y PARCIALES.....	46
2.2.3.1 Enfrentamiento y compatibilidad RhD total con D parcial.	46
2.2.3.2 Enfrentamiento y compatibilidad RhD parcial con RhD negativo.	48
2.2.3.4 Hemoderivados comprometidos en la reacción Hemolítica D T con D P.	49
2.2.3.4.1 Concentrados Globulares.	49
2.2.3.4.2 CONCENTRADOS GLOBULARES LEUCORREDUCIDOS.	50
2.2.4 VALIDACIÓN DE LOS ENSAYOS ANTIGLOBULINICOS.....	52
2.2.4.1 Pruebas Cruzadas.	52
2.2.4.2 Discrepancias de resultados.	56
2.2.2.4.3 Alteraciones de resultados de compatibilidad por anticuerpos.....	59
2.3 HIPÓTESIS Y VARIABLES.	65
2.3.1 HIPÓTESIS.	65
2.3.2 VARIABLES	65
VARIABLE INDEPENDIENTE.....	65

2.4 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	66
CAPÍTULO III.....	67
MARCO METODOLÓGICO.....	67
3.1 MÉTODO CIENTÍFICO.	67
3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA	68
3.2.1 POBLACIÓN	68
3.2.2 MUESTRA.....	69
3.3 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS	69
3.4 ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	70
3.4.1 IDENTIFICACIÓN RH POR INTENSIDAD DE REACCIÓN.	70
CAPÍTULO IV.	76
4.1 CONCLUSIONES.	76
4.2 RECOMENDACIONES.....	76
BIBLIOGRAFÍA	78

ÍNDICE DE TABLAS.

Tabla 1. Reactivos antiglobulínicos para la prueba de coombs.	18
Tabla 2. Prueba de coombs directo.	32
Tabla 4. Esquema de tipificación Rh.	35
Tabla 5. Pérdida de la volemia.....	51
Tabla 6. Interpretación pruebas de compatibilidad.....	56
Tabla 7. Formato para valoración de antígenos RhD.	81
Tabla 8. Formato para evaluación de variantes D	82
Tabla 9. Formato para valoración de coombs.....	83
Tabla 10. Formato compatibilidad 1.....	83
Tabla 11. Formato compatibilidad 2.....	83
Tabla 12. Formato compatibilidad 3.....	84

ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 1. Interacción antígeno – anticuerpo	24
Figura 2. Producción de anticuerpos.....	25
Figura 3. Esquema de la prueba de coombs directo.	26
Figura 4. Esquema de la prueba de coombs indirecto.	27
Figura 5. Anticuerpo anti-D.....	37
Figura 6. Antígenos Rh.....	38
Figura 7. Variación antigénica Rh.	39
Figura 8. Exposición de antígenos Rh.	40
Figura 9. Distribución de fenotipos.	41
Figura 10. Variación antigénica D.....	42
Figura 11. Enfrentamiento RhD y Rh parcial.....	47
Figura 12. Compatibilidad RhD-P y RhD negativo.....	48
Figura 13. Concentrado de glóbulos rojos.....	49
Figura 14. Concentrado de glóbulos leucorreducidos.	50
Figura 15. Almacenamiento de paquetes globulares	84
Figura 16. Almacenamiento de plasma	85
Figura 17. Set de tipificación.....	85
Figura 18. Panel de células reactivas.....	86
Figura 19. Materiales para pruebas de Coombs.....	86
Figura 20. Colocando el reactivo antiglobulina humana.....	87
Figura 21. Muestra de donante de sangre para análisis	87
Figura 22. Lavado de células con suero fisiológico al 0,9%.....	88
Figura 23. Colocar células reactivas.....	88
Figura 24. Extracción de Sangre a un donante.....	89
Figura 25. Colocar suero para análisis.....	89

INDICE DE TABLAS ESTADISTICAS

Tabla 1. Identificación Rh.	70
Tabla 2. Variante D.....	71
Tabla 3. Coombs directo e indirecto.....	72
Tabla 4. Compatibilidad pre transfusional.....	73
Tabla 5. Comprobación de la hipótesis.....	74
Tabla 6. Efectividad del PAI.....	74

ÍNDICE DE GRÁFICAS DE LAS TABLAS ESTADÍSTICAS.

Gráfica1. Identificación Rh.....	70
Gráfica 2. Variantes D.	71
Gráfica 3. Coombs directo e indirecto.	72
Gráfica 4. Pruebas pretransfusionales.....	73
Gráfica 5. Comprobación de la hipótesis.....	75

INTRODUCCIÓN.

El sistema Rh es el grupo sanguíneo más complejo y polimórfico de la membrana del glóbulo rojo. Está compuesto por más de 49 antígenos definidos por métodos serológicos siendo los más importantes D, C, c, E y e. Estos antígenos pueden presentar alteraciones en su expresión dando origen a fenotipos débiles, parciales o delecionados, como productos de las variantes alélicas de los genes RH.

El sistema Rh presenta un gran interés clínico en obstetricia y medicina transfusional debido a la participación de sus aloanticuerpos en la destrucción inmune de los eritrocitos. Los antígenos del sistema Rh son proteínas altamente inmunogénicas capaces de provocar una respuesta inmunológica en aquellos individuos que no los poseen. Este sistema presenta un gran interés clínico en obstetricia debido a que sus aloanticuerpos son responsables de la destrucción inmune de los hematíes en las incompatibilidades feto materno.

En este caso la embarazada presenta un aloanticuerpos de alto riesgo inmunológico dirigido contra un antígeno de elevada frecuencia poblacional, dificultando la obtención de sangre compatible. Los aloanticuerpos que reconocen a los antígenos Rh usualmente son isotipo IgG y se identifican mediante la prueba indirecta de la anti globulina (Coombs), o por otros potenciadores con alto contenido de proteínas (albúmina) o baja fuerza iónica (LISS), enzimas proteolíticas.

Además, presentan efecto de dosis, es decir, reaccionan con mayor intensidad con células homocigotas que heterocigotos. Estos anticuerpos son causantes de la reacción hemolítica en los eritrocitos fetales en la enfermedad hemolítica del recién nacido.

Las muestras analizadas son recolectadas en el servicio de Medicina Transfusional del Hospital Docente de la ciudad de Riobamba, área destinada a la responsabilidad de la entrega de sangre y derivados aplicarse en la terapia transfusional, para lo cual

dispone de tecnología de alta calidad y seguridad que es empleada en los análisis Inmunohematológicos asociados a la identificación de grupos sanguíneos del paciente y de la clasificación de la sangre o hemoderivado a transfundirse.

Este servicio apoyo al área clínica de laboratorio para confirmar grupos sanguíneos de dudosa interpretación, generalmente suele darse con los grupos del sistema Rh, cuando se tiene reportes negativos, debido a la alteración de la concentración antigénica que puede tener o al relacionarse a tratamiento y condiciones clínicas del paciente que dependiendo de la técnica y reactivos empleados se reportan resultados que varían en su interpretación y confiabilidad.

CAPÍTULO I

1. PROBLEMATIZACIÓN.

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

De los sistemas serológicos, o métodos utilizados para demostrar la presencia de antígenos o anticuerpos de grupos sanguíneos, la prueba de antiglobulina humana o de Coombs, es considerada como la más eficaz y de mayor valor en los bancos de sangre o servicios transfusionales.

El principio de esta prueba fue descrita por Moreschi en 1908 pero fueron Coombs, Mourant, y Race quienes la introdujeron en la medicina clínica para el estudio de los grupos sanguíneos y de los anticuerpos, demostraron que podía ser usada para detectar anticuerpos incompletos anti-Rh, en el suero o para evidenciar la sensibilización glóbulos rojos in vivo, así como también en el diagnóstico de la enfermedad hemolítica en el recién nacido.

La evaluación de los grupos sanguíneos, es una de las prácticas rutinarias pero al mismo tiempo de gran interés cuando se trata de calificar y clasificar al donante y receptor de sangre, en la evaluación del sistema de grupo sanguíneo en los laboratorios clínicos se reporta de manera exclusiva a la presencia o la ausencia del antígeno D. Este procedimiento es limitante debido a que existen otros antígenos que puede expresarse al mismo tiempo del antígeno D, esto permite medir el impacto que podría ocasionarse durante una transfusión de sangre o a su vez la incompatibilidad o sensibilización generada en un proceso gestacional.

Es el antígeno D, el que expresa variantes o alteraciones de concentración y forma de expresión, la combinación de las variantes de este antígeno permite su clasificación como D totales, D parciales, variante Du etc. Existen variaciones, que permite en un momento dado de la transfusión o del embarazo genera anticuerpos contra el antígeno

que han ingresado al organismo es por ello que al valorarse grupo sanguíneo D negativo se debe confirmar esta ausencia antigénica con prueba específica que descarten la posibilidad de haber enfrentado hematíes de los llamados D parciales estos en su estructura cotidiana expresan anticuerpos que para ellos son naturales pero que si ingresan al organismo de otras personas carentes de este antígeno, se vuelven anticuerpos de destrucción hemática.

Con este tema se proyecta a orientar a técnicos de la terapia transfusional a reducir los impactos transfusionales cuando se trata de transfusiones masivas que cruzan con manifestaciones clínicas relacionadas a una complicación de tipo transfusional, el ámbito de estudio es el Servicio de Medicina Transfusional, en la cual se registran alrededor de 13.000 transfusiones desde el año 2012, el cuidado del paciente transfundido es importante desde el punto de vista serológico y también se considera a este paciente un futuro donador de sangre que pueda aportar en contribuir a una o varias vidas.

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.

¿Al compatibilizar hematíes RhD positivos con Rh D parciales se puede prevenir la reacción hemolítica en el paciente transfundido con la ayuda del test antiglobulínico?

1.3 OBJETIVOS.

1.3.1 OBJETIVO GENERAL.

Aplicar el test Antiglobulínico en la valoración de la reacción hemolítica al compatibilizar hematíes RhD positivos totales y parciales, en usuarios atendidos en el Servicio de Medicina Transfusional del Hospital Provincial General Docente de Riobamba, en el período Abril – Septiembre del año 2015.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Diferenciar el principio técnico y utilidad clínica de las pruebas de Coombs directo e indirecto.
- Identificar en vitro muestras de sangre RhD positivas totales y RhD parciales, mediante la prueba de tipificación sanguínea directa.
- Compatibilizar muestras de sangre RhD positivas totales y parciales, para valorar la reacción de hemaglutinación en significado de incompatibilidad.
- Valorar la reacción hemolítica post transfusión mediante el test antiglobulínico, en fases térmicas y frías.

1.4 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA.

Las pruebas antiglobulínicas o de Coombs, valora una reacción serológica de gran valor en la investigación de anticuerpos, el reactivo utilizado en estas pruebas, detecta anti globulinas unidas a los glóbulos rojos de tipo IgG como los del sistema Rh, sin embargo los anticuerpos que son dependientes del complemento y pertenecen a otros sistemas de grupos sanguíneos también son de interés clínico en la evaluación de incompatibilidades transfusionales estas pruebas se clasifican en pruebas directas e indirectas con el objetivo de detectar a los anticuerpos ligados a la membrana del eritrocitos causando la destrucción de los mismos, traduciéndose en la destrucción de los glóbulos rojos y en la evaluación de los anticuerpos libres sin estar unidos a los antígenos para provocar en la posterior la reacción antígeno anticuerpo.

La clasificación de los grupos sanguíneos tienen una importancia de alto valor clínico cuando se trata de transfundir hemoderivados o a su vez de evaluar incompatibilidades feto maternas.

El sistema de grupo sanguíneo Rh, es complejo en su estructura antigénica, debido a que se incorporan alteraciones de concentración y variedades de este antígeno, usualmente se ha limitado los resultados a clasificarlos como Rh positivos o

negativos, sin tomar en cuenta la estructura de antígenos mayores y menores que acompañan a los hematíes estos antígenos, pueden ser causantes de reacciones transfusionales o la sensibilidad de los glóbulos rojos.

Puede pasar desapercibido la interpretación de resultados Rh D parcial, debido a que en el reporte y manifestación de dirección puede ser interpretado como un Rh total, quien tiene completa la estructura antigénica, pero es el Rh parcial, el que deriva en su significación por tener un anticuerpo contra los antígenos D totales.

Al compatibilizar en vitro posiblemente los ensayos denotan resultados que favorezcan a la transfusión, pero al ingresar al organismo los derivados del plasma procedentes de los D parciales, estarán estimulando a la reacción más severa que será las incompatibilidades debido a que la cantidad de plasma que ingrese al organismo tiene alta concentración de anticuerpos que podrían destruir en forma agresiva y significativa a los hematíes del paciente, emplear técnicas que permitan identificar esta característica D parcial como la valoración post transfusional con las pruebas antiglobulínicas es el propósito de este trabajo investigativo.

CAPÍTULO II

1 MARCO TEÓRICO.

2.1 POSICIONAMIENTO PERSONAL.

La teoría del conocimiento o creencia, es lo que conlleva al trabajo de esta investigación en el cual se elabora basado o partiendo del conocimiento del pragmatismo considerado la relación teórica y práctica, para alcanzar los objetivos finales de este proceso investigativo. El pragmatismo es una doctrina filosófica que considera que el único medio de juzgar la verdad de una doctrina moral, social, religiosa o científica consiste en considerar sus efectos prácticos. William James.

2.2 FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.

2.2.1 PRUEBA DE COOMBS O ANTIGLOBULÍNICA.

2.2.1.1 FACTORES QUE FAVORECEN A LA REACCIÓN ANTÍGENO – ANTICUERPO.

En Inmunohematología se ha desarrollado una amplia gama de procedimientos de detección e identificación de anticuerpos eritrocitarios in vitro, por lo cual se realiza una revisión de técnicas y métodos empleados con este objetivo, como son el método que utiliza eritrocitos pre tratados con enzimas proteolíticas y las técnicas de Polibreno, que utiliza solución de baja fuerza iónica (LISS), la de antiglobulina indirecta, la de aglutinación en gel, la inhibición de la aglutinación, la hemólisis y la adherencia de eritrocitos en fase sólida. Se abordan los problemas que afectan a la reacción de aglutinación entre el antígeno y el anticuerpo; para una mejor comprensión la reacción de aglutinación se subdivide en su primera y segunda etapa. En la primera etapa los factores que se analizan son concentración de antígeno y anticuerpo, pH, temperatura, fuerza iónica y tiempo de incubación; en la segunda etapa la característica del anticuerpo, localización y número de sitios antigénicos,

fuerzas que mantienen la distancia entre los eritrocitos, uso de la albúmina bovina, uso de enzimas, efecto de dosis y efecto de moléculas con carga positiva.(MAS, 2003).

FACTORES QUE FAVORECEN LA REACCIÓN ANTÍGENO – ANTICUERPO.

- a) Efecto de dosis:** Se define como la diferencia de reacción entre un estado homocigoto y un heterocigoto, no es aparente con todos los grupos sanguíneos pero cuando está presente pueden requerirse sueros seleccionados, puede demostrarse cuando se compara la fuerza de reacción o el título con dos tipos de células uno será homocigoto y el otro heterocigoto este efecto se observa frecuentemente con los grupos sanguíneos M, N, C,c, E, e, la importancia práctica de este efecto tiene su aplicación cuando se hacen titulaciones de un anticuerpo, los títulos serán más altos cuando se empleen hematíes homocigotos pero con heterocigotos va a cambiar su titulación de igual forma en la identificación de los anticuerpos la reacción es más potente cuando las células empleadas son homocigotas, ahí la necesidad de conocer previamente el genotipo de los hematíes empleadas. (LINARES, 1976).
- b) Edad de las células:** Las células frescas reaccionan mejor que aquellos que han sido conservadas por cierto tiempo, los glóbulos rojos preservados con CPD, ACD a 4 °C conservan mejor su reactividad que bajo la forma de coagulo. (LINARES, 1976).
- c) Temperatura:** De igual manera la reactividad de los antígenos eritrocitarios se mantiene por varios años cuando las muestras son guardadas a temperaturas de -30 °C, su reactividad puede ser satisfactoria hasta los 21 días pero a temperatura ambiente se deteriora rápidamente en general todas las muestras de sangre deben guardarse en refrigerador y nunca dejarlas a temperatura ambiente por largos periodos de tiempo (LINARES, 1976).
- d) Suspensión celular:** Se ha señalado que la reacción antígeno anticuerpo requiere un equilibrio cuantitativo entre ambos componentes para lograr una máxima

reactividad igualmente se vierte que un exceso de anticuerpo podría producir un bloqueo de dirección llamado fenómeno de prozona, en relación al antígeno se recomienda la suspensión eritrocito área de 5% para la prueba en tubo, esto es importante pues mientras más concentrada es la suspensión más débil será la reacción en cambio para determinaciones en lámina la concentración debe ser de un 40 a 50% (LINARES, 1976).

- e) **Avidez:** Es la rapidez con que un anticuerpo se combina y se estabiliza con su antígeno correspondiente se dice que es grande cuando el anticuerpo reacciona rápidamente con cantidades adecuadas de eritrocitos para producir grandes masas de aglutinados, tales anticuerpos generalmente son seleccionados para preparar reactivos comerciales. (LINARES, 1976).
- f) **Título:** Si un suero que contiene un anticuerpo es diluido progresivamente llegará a un punto en el cual ya no podrá ser detectado esta prueba de cuantificación de los anticuerpos es conocida como titulación y su valor es recíproco de la dilución en la cual se observa la aglutinación mínima. (LINARES, 1976).
- g) **Conservación:** Los anticuerpos son moléculas lábiles y con facilidad pierden actividad, por este motivo se recomienda usar sueros frescos y mantenerlos bajo refrigeración cuando no están en su uso si se requiere un depósito prolongado deben congelarse. (LINARES, 1976).

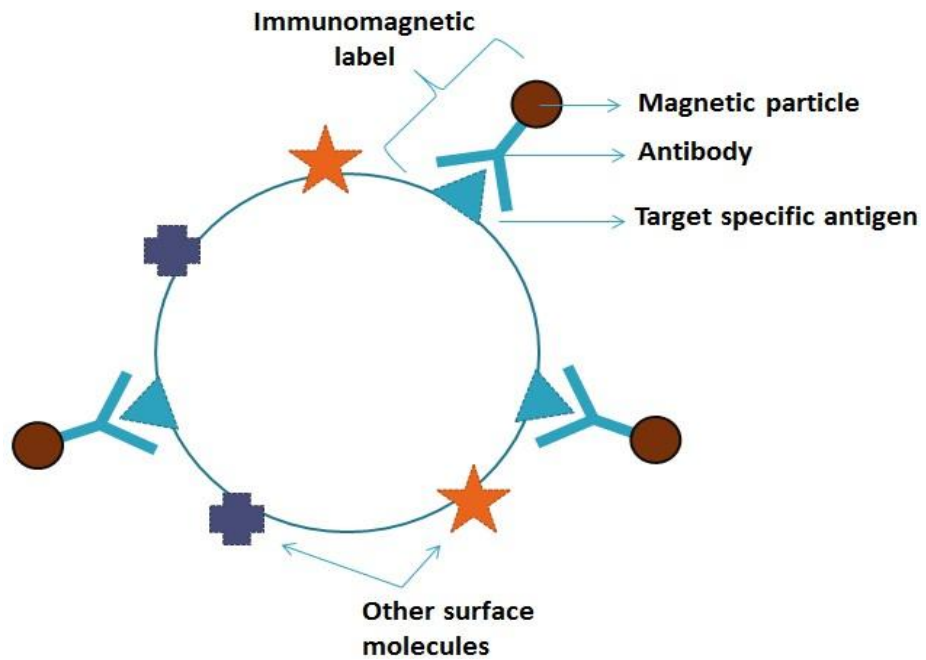
2.2.1.2 HISTORIA DE LAS PRUEBAS DE COOMBS.

Los requerimientos transfusionales de la mayoría de los pacientes que necesitan de una transfusión sanguínea, se cumplen al administrar sangre de donantes de igual fenotipo ABO y RhD que la del paciente. Numerosos antígenos de grupos sanguíneos diferentes al A, B y RhD son ignorados en el acto transfusional, debido a que muy pocas personas poseen anticuerpos dirigidos contra alguno de ellos.

Del 0,5 al 1,5 % de los pacientes presentan anticuerpos resultantes de la exposición a células extrañas que ingresaron al organismo por vía transfusión o embarazo. Estos anticuerpos eritrocitarios se pueden detectar e identificar por diferentes procederes,

sin embargo, existen factores que afectan la reacción entre el anticuerpo y el antígeno, los factores pueden estar asociados con el antígeno, con el anticuerpo y con las condiciones de la reacción. Los factores relacionados con el antígeno incluyen el número de sitios antigénicos, las interacciones génicas, la dosis, el sitio que ocupa el antígeno sobre la superficie eritrocitaria, la edad de las células y las condiciones de almacenaje de estas. Entre los factores relacionados con el anticuerpo se encuentran la capacidad para fijar el complemento, la influencia que sobre la reacción tienen el uso de suero o plasma, el fenómeno de rouleaux y la contaminación bacteriana.

Figura 1. Interacción antígeno – anticuerpo

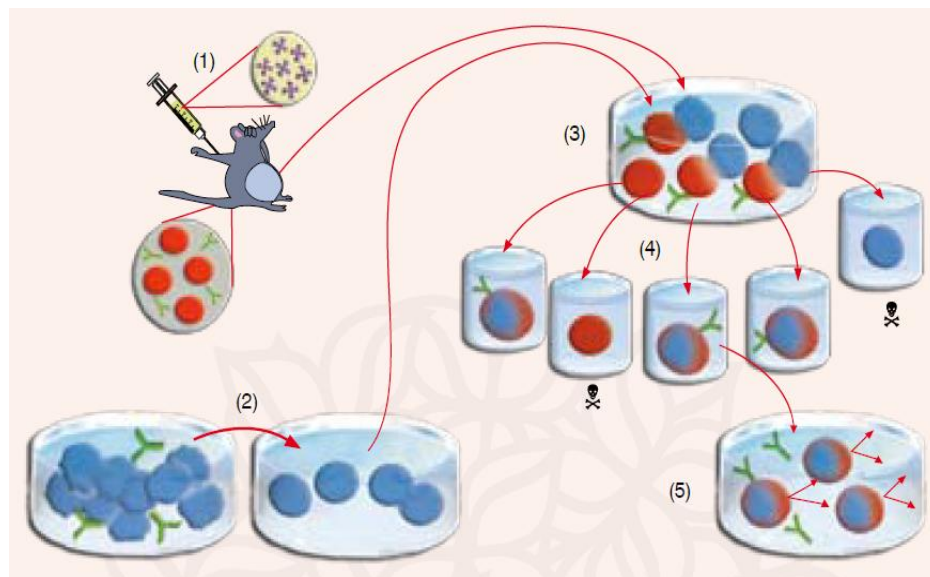


Fuente:http://educativa.catedu.es/44700165/aula/archivos/repositorio//3250/3413/html/22_funciones_de_los_anticuerpos.html

Las condiciones de la reacción incluyen el pH, la relación entre la concentración de antígeno y anticuerpo, la temperatura, el tiempo de incubación, la centrifugación, la fuerza iónica y por último, el tipo de medio, es decir, si para la reacción se utiliza un medio salino, albuminoideo, enzimático o se usa el reactivo antiglobulínico.(SANANBRIA, 2007).

Moléculas pequeñas como las IgG puede insensibilizar los eritrocitos y no producir aglutinación en el año 1945 Coombs y colaboradores describieron una prueba para detectar estos anticuerpos no aglutinan posterior a este estudio esta misma prueba se utilizó para demostrar la unión del complemento a los eritrocitos, esta prueba se conoce como la prueba de antiglobulina o prueba de Coombs, todas las moléculas de anticuerpos son globulinas, estas globulinas humanas son inyectadas animales para que fabriquen anticuerpos dirigidos contra esta proteína extraña, el suero del animal es sometido luego a procedimientos de absorción para eliminar las aglutininas iniciadas, este suero tendrá la capacidad de reaccionar específicamente contra la globulina humana por lo tanto se denomina suero antiglobulina humana estos sueros se pueden producir con diferentes especificidades principalmente contra la IgG y contra diferentes fracciones del complemento.

Figura 2. Producción de anticuerpos



Fuente: Arbeláez García, Fundamentos de genética e inmunología

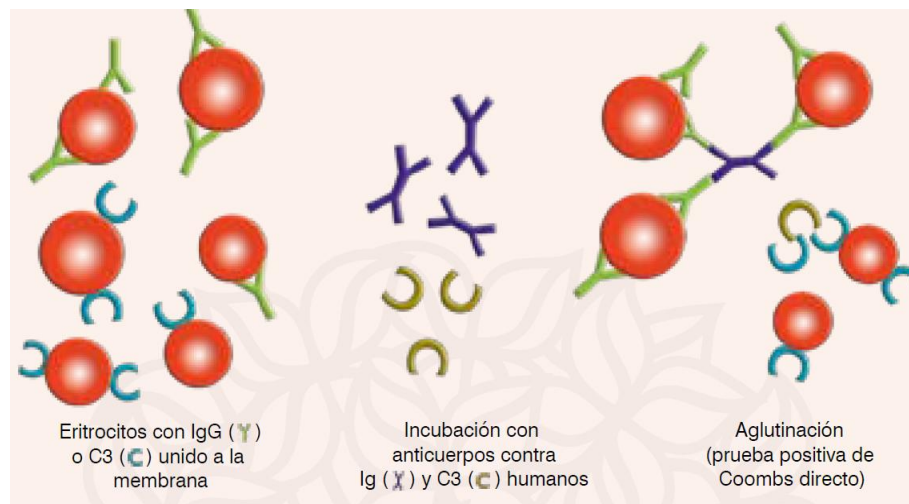
Las moléculas AGH (antiglobulina humana) forman un puente entre los eritrocitos adyacentes cubiertos con anticuerpos para producir aglutinación visible, las células que no tienen ninguna globulina unida serán aglutinados, la fuerza de la aglutinación

observada es generalmente proporcional a la cantidad de la globulina unida el suero de AGH reacciona con los anticuerpos y fracciones del complemento de origen humano que están unidos a los eritrocitos por lo tanto los eritrocitos deben ser lavados para eliminar las proteínas no unidas antes de la adición de AGH. (GARCIA, 2009).

2.2.1.3 CLASIFICACIONES DE LAS PRUEBAS DE COOMBS.

La prueba de Coombs directa, se utiliza para demostrar el recubrimiento íntimo de eritrocitos con anticuerpos o con el complemento principalmente IgG y C3d los eritrocitos lavados de un paciente o de un donante se prueban directamente con los reactivos de antiglobulina humana, la prueba antiglobulina directa se utiliza en la investigación de enfermedad hemolítica del feto y del recién nacido, en anemia hemolítica autoinmune, en hemólisis inducida por drogas y en el estudio de las reacciones inmunes contra eritrocitos transfundidos recientemente.

Figura 3. Esquema de la prueba de Coombs directa.



Fuente:(GARCIA, 2009)

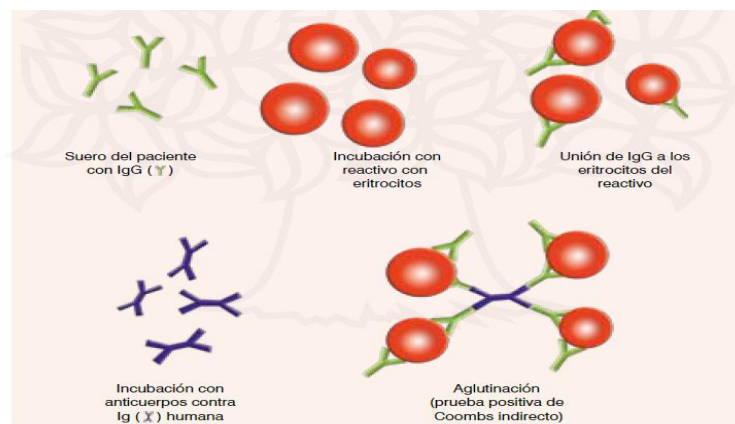
La prueba antiglobulínica indirecta o Coombs indirecto se utiliza el suero o plasma para lo cual se incuban eritrocitos, luego se hace un lavado para remover las globulinas no unidas, la aglutinación que ocurre cuando se agrega la antiglobulina humana

indica que el anticuerpo se ha unido a un antígeno específico presente sobre el eritrocito, la especificidad del anticuerpo puede ser conocida y la del antígeno no como en el caso de la fenotipificación de grupos sanguíneos o pueden ser desconocidas, también se usa para realizar la prueba cruzada de compatibilidad en donde el suero y los antígenos eritrocitarios son desconocidos. (GARCIA, 2009).

Entre los anticuerpos antieritrocitos el más nocivo es el que provoca la incompatibilidad por sistema ABO ha ocasionado aproximadamente 40 % de las muertes por incompatibilidad, los generadores de este problema son la confusión al asignar la bolsa de sangre al paciente y el etiquetado equivocado de las muestras para las pruebas pretransfusionales.

Para conocer la naturaleza de los anticuerpos presentes en una reacción transfusional es muy importante disponer de todos los antecedentes que de alguna manera afectan o provocan la producción de los mismos, tales como los transfusionales y, cuando se habla de mujeres, los gineco obstétricos, para indagar respecto a una probable enfermedad hemolítica del recién nacido. Las reacciones transfusionales tardías son efectos adversos producidos por la transmisión de microorganismos contenidos en la sangre del donador.

Figura 4. Esquema de la prueba de Coombs Indirecto



Fuente:(GARCIA, 2009)

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

Anticuerpos contra aloantígenos: los que se producen contra antígenos de eritrocitos, leucocitos y plaquetas.

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

Regulares naturales: los producidos contra el sistema ABO (anti-A y anti-B).

Irregulares naturales: anti A1, anti-M, anti-N, anti-P1. anti-E, entre otros.

Irregulares adquiridos o inmunes: antisistema Rh-Hr (anti-D. anti-c, anti-C, y otros), anti-Kell, anti-Duffy. (GONZALEZ, 2005).

Tabla 1. Reactivos antiglobulínicos para la prueba de Coombs

Nombre del reactivo	Definición
Anti-IgG, C3d; poliespecífico	Contiene anti-IgG y anti-C3d (puede contener otros anticuerpos como anti-C3c y anti-inmunoglobulinas)
Anti-IgG	Contiene anti-IgG sin actividad anticomplemento, no necesariamente específico de cadenas gamma
Anti-IgG, cadenas pesadas	Contiene sólo anticuerpos reactivos contra cadenas gamma humanas
Anti-C3b	Contiene sólo anticuerpos C3b sin actividad anti-inmunoglobulina
anti-C3d	Contiene sólo anticuerpos C3d sin actividad anti-inmunoglobulina
Anti-C4b	Contiene sólo anticuerpos C4b sin actividad anti-inmunoglobulina
Anti-C4d	Contiene sólo anticuerpos C4d sin actividad anti-inmunoglobulina

Fuente:(GARCIA, 2009)

2.2.1.4 UTILIDADES DE LAS PRUEBAS DE COOMBS.

La identificación de un anticuerpo constituye una de las prácticas más interesantes en el campo de la Inmunohematología la mayoría de las personas no tienen anticuerpos irregulares suero silencia se ha calculado entre 0,3 al 2% dependiendo del grupo sanguíneo del individuo examinado y de las técnicas utilizadas.

Las normativas de los servicios transfusionales establece que se debe practicar la investigación de anticuerpos irregulares en el suero del donante y en la sangre de los candidatos a recibir una transfusión, en los donantes la investigación tiene la finalidad de detectar anticuerpos irregulares para prevenir su transferencia al receptor, las normas de la asociación americana de bancos de sangre recomiendan especialmente que esta prueba debe ser realizada en aquellos donantes con historia de transfusiones anteriores o que han cruzado embarazos.

En los receptores de sangre como prueba pre transfusional complementa, acorte y facilita la prueba cruzada dándole mayor seguridad a la transfusión.

Otras ocasiones esta prueba son en mujeres embarazadas para detectar anticuerpos que puedan causar enfermedad hemolítica del recién nacido o discrepancia en la prueba cruzada para el momento del parto o el caso que la paciente requiera ser transfundida.

Son importantes la realización de estas pruebas para aclarar discrepancia séricas en el sistema ABO.

También es importante la realización estas pruebas para las elecciones hemolítica transfusionales en estudio y para investigaciones de anemia hemolítica autoinmune.

Esta prueba tiene gran valor pero al mismo tiempo limitaciones para citar una prueba negativa no necesariamente significa que el suero estudiado esté libre de anticuerpos irregulares sino que se pudiera demostrar anticuerpos que reacciona con las células detectadas en las técnicas empleadas si las circunstancias clínicas o de laboratorio no ameritan, el procedimiento puede expandirse empleando otras técnicas como por ejemplo en el caso que se sospeche una reacción hemolítica o enfermedad hemolítica del recién nacido buen anemia hemolítica autoinmune, puede ser necesario incluir técnicas con enzimas y realiza la investigación en el grupo para demostrar el anticuerpo causante del problema. (LINARES, Inmunohemtaologia, 1987).

2.2.1.5 TÉCNICAS EMPLEADAS EN LA REALIZACIÓN DE LAS PRUEBAS DE COOMBS.

LAVADO Y SUSPENSIÓN DE HEMATÍES ABO.

Requerimientos

- Tubos de ensayo (12X75)
- Pipeta de Pasteur
- Gradilla
- Centrifuga
- Demográfico
- Guantes
- Mandil
- Gafas
- Solución salina (0,9%)

Muestras requeridas

- Sangre del donante (unidades a transfundir)
- Sangre del receptor o paciente (anexo a la solicitud de transfusión)

Procedimiento

- Con una pipeta de Pasteur DISPENSAR 1ml de sangre total.
- Complementar con solución salina hasta 1 cm del borde.
- Centrifugar por 2 minutos a 3400 rpm para sedimentar las células
- Eliminar el sobrenadante por aspiración, tratando de no perder hematíes.
- Repetir este procedimiento por tres veces.

SUSPENSIÓN CELULAR AL 5%

- En un tubo de 12x75 dispensar 19 gotas de SSF y adicionar 1 gota de GR sedimentados.
- Homogenizar y mantener el refrigeración (4°C).

2.2.1.5.1 COOMBS DIRECTO.

REACTIVOS, SUMINISTROS Y EQUIPOS

- Suero de Coombs (poliespecífico o monoespecífico)
- Hematíes sensibilizados
- Tubos de 10 x 75, Pipetas Pasteur
- Gradilla, Centrífuga
- Lámpara de luz intensa
- Magnificador.

Técnica

- Adicionar una gota de hematíes del receptor o paciente. Se puede correr por duplicado.
- Lavar 3 veces con Solución Salina fisiológica al 0,9 %.
- Se llena el tubo hasta cerca al borde Con Solución Salina al 0.9%. Se centrifuga a 3500 r.p.m., durante 1 minuto.
- Se decanta todo. Se adiciona 1 a 2 gotas de Solución Salina, se resuspende el botón.
- Agregar 2 gotas de Antiglobulina humana poliespecifico. Mezclar
- Centrifugar a 3500 r.p.m. durante 15 segundos.
- Leer la graduación de las reacciones y anotar los resultados
- Los resultados negativos deben ser comprobados con la célula control de Coombs para verificar la actividad del reactivo antiglobulina. Adicionar 1 gota de hematíes control de Coombs. Centrifugar a 3500 r.p.m. durante 15 segundos. Resuspender

y leer. La aglutinación de 2 cruces debe estar presente. Si es negativa, la prueba no es válida. Se deberá repetir el Coombs Directo.

Tabla 2. Prueba de Coombs directo.

TUBOS	MUESTRA	AHG
P	1 GOTA	2 GOTAS
CENTRIFUGAR Y LEER		
RESULTADOS NEGATIVOS		
TUBOS	CELULAS CONTROL DE COOMBS	
P	1 GOTA	
CENTRIFUGAR Y LEER		

Fuente:(JARAMILLO, 2012)

Reporte de resultados

Una prueba negativa se demuestra por la ausencia de aglutinación. Una prueba positiva está demostrada por aglutinación. Si la sangre de cordón umbilical es positiva se debe reportar inmediatamente al médico tratante.

Notas de procedimiento

- Si la prueba resulta negativo se puede incubar a temperatura ambiente 10 minutos, antes de adicionar las células control de Coombs. Centrifugar y leer. Esto nos permite detectar complemento sobre los hematíes.
- Un Coombs directo positivo en patrón de campo mixto es típico de transfusión incompatible (ej.: Reacción transfusional hemolítica tardía).

Desordenes que producen Coombs directo positivo

- Anemia hemolítica autoinmune,
- Linfoma
- Leucemia linfocítica crónica.

- Desordenes del colágeno como el Lupus Eritematoso.
- Otras enfermedades como Carcinoma.
- Enfermedad Hepática o Infección Mononucleósica.
- Tratamiento con drogas: Penicilina, Cefalonia, Metildopa, etc.

Para interpretar un Coombs directo se supone que:

- Las muestras son apropiadamente recolectadas. No contaminadas.
- Los hematíes son adecuadamente lavados.
- El suero de Coombs es potente y no contaminado.

2.2.1.5.2 COOMBS INDIRECTO.

Material

- 10 Tubos de ensayo
- 10 Pipetas Pasteur
- 1 Gradilla.
- 1 Bulbo.

Material Biológico

- Glóbulos rojos lavados al 3 - 5%
- Suero

Reactivos

- Suero de Coombs
- Albúmina bovina

Equipo

- Micro centrífugo
- Baño María o Estufa

Técnica solución salina

- Codificar tubos del 1 al 10
- Colocar 2 gotas del suero o plasma a cada tubo
- Colocar una gota de las células reactivas a cada tubo
- Centrifugar 20 segundos a 3000 rpm y leer
- Registrar resultados

Técnica LISS

- A cada tubo colocar 2 gotas de Liss
- Incubar 15 minutos
- Centrifugar 20 segundos a 3000 rpm
- Leer y anotar resultados
- Lavar los tubos tres veces con solución salina 0.9%

Técnica de Coombs

- A cada tubo colocar 2 gotas de suero de Coombs
- Centrifugar y observar
- Leer y anotar resultados.

Anticuerpo irregular

Estos anticuerpos son generalmente inmunoglobulinas tipo M y ocasionalmente tipo G, y debido a esa temperatura de reacción carecen de importancia clínica salvo que su reacción ocurra también a 37 °C, su importancia radica en pacientes que serán intervenido a 22 ° C, como es el caso de operación de corazón. Los llamados anticuerpos calientes tienen una temperatura óptima de reacción a 37 °C. A estos anticuerpos tienen una relevante importancia clínica ya que se les asocia con reacciones transfusionales de intensidad moderada a severa, que pueden ocasionar la muerte.

Tabla 3. Esquema Coombs indirecto

TUBOS	MUESTRA	CELULAS REACTIVAS
FASE SALINA		
1	2 GOTAS	1
2	2 GOTAS	1
3	2 GOTAS	1
CENTRIFUGAR 3500 RPM		
FASE LISS		
1	2 GOTAS	INCUBAR 37 °C POR 15 MINUTOS
2	2 GOTAS	
3	2 GOTAS	
CENTRIFUGAR 3500 RPM		
LAVAR CADA TUBO TRES VECES		
1	SOLUCIÓN SALINA ISOTÓNICA	
2		
3		
FASE COOMBS		
1	2 GOTAS	SUERO DE COOMBS
2	2 GOTAS	
3	2 GOTAS	
RESULTADOS NEGATIVOS		
1	1 GOTAS	CÉLULAS CONTROL DE COOMBS
2	1 GOTAS	
3	1 GOTAS	

Fuente:(JARAMILLO, 2012)

Conclusión:

Es importante determinar los anticuerpos irregulares ya que estos anticuerpos tienen una relevante importancia clínica ya que se les asocia con reacciones transfusionales de intensidad moderada a severa.(JARAMILLO, 2012).

2.2.2 SISTEMA DE GRUPO SANGUÍNEO RH.

2.2.2.1 SISTEMA RH

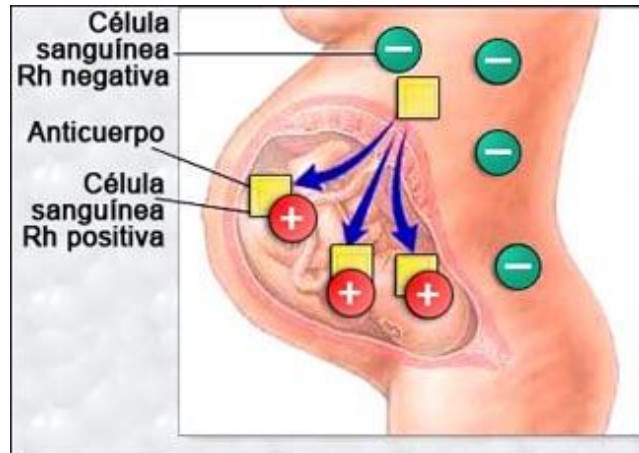
En 1940 se descubrió otro grupo de antígenos (D) que se denominaron factores Rhesus (factores Rh) porque fueron descubiertos durante unos experimentos con simios del tipo *Macacus Rhesus*. Según este grupo sanguíneo, las personas con factores Rhesus en su sangre se clasificarían como Rh positivos; mientras que aquellas sin los factores se clasificarían como Rh negativos, y sólo podrán recibir sangre de donantes Rh negativos.

Representa otro sistema de antígenos de eritrocitos, que no está químicamente caracterizado. En 1940 Landsteiner y Wiener efectuaron comunicaciones en el sentido que si inyectaban eritrocitos de mono Rhesus a conejos o cobayos, estos animales producían un anticuerpo que, después de su absorción, aglutinaban los eritrocitos de un 85% aproximadamente, de personas norteamericanas de raza blanca. Denominaron a este anticuerpo anti - Rh (Rhesus) y el antígeno que se detectaba recibió el nombre de antígeno Rh. Poco antes de esto Levine y Stetson habían encontrado un anticuerpo en el suero de una mujer del grupo O, que antes no había sido transfundida, que presentó una reacción.

Después de recibir una transfusión de sangre del Grupo O de su marido. Más tarde la paciente dio a luz un feto macerado, y estos autores sugirieron que había producido un anticuerpo para un antígeno eritrocítico fetal heredado del marido. Al parecer los anticuerpos humanos y animales eran idénticos, y por lo tanto se aceptó el nombre de

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

Figura 5: Anticuerpo anti-D



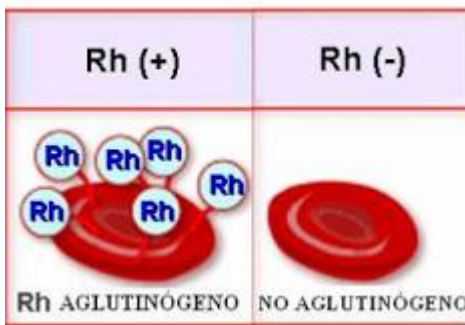
Fuente:<http://drmime.blogspot.com/2011/11/madre-embarazada-y-grupo-sanguineo.html>

2.2.2.2 ANTÍGENOS DEL SISTEMA RH.

El sistema Rh es un sistema muy complejo donde pueden aparecer diferentes Ag: D, C, E, c, e. Una sangre se considera Rh+ si presenta el Ag D, y se considera Rh-. Además, en algunos de estos Ag se ha encontrado variedades antigénicas, siendo el de mayor interés el Du, también llamado Rh positivo débil. Es importante tipificar este Ag y no confundir la sangre con un Rh - (Prueba de Coombs). De todos estos antígenos, el que presenta mayor capacidad antigénica es el D, por lo que en la determinación rutinaria del Rh sólo se investiga el Ag D.

Los antígenos del sistema Rh son algunas veces responsables de reacciones por transfusión menos severas que el ABO. Son proteínas y rara vez se encuentran en el medio, de modo que los anticuerpos preformados son raros. Los genes que codifican los antígenos del sistema Rh están localizados en el brazo corto del cromosoma 1.

Figura 6: Antígenos Rh



Fuente:<http://laphysis.blogspot.com/2011/10/tema-4-fisiologia-del-eritrocito-ii.html>

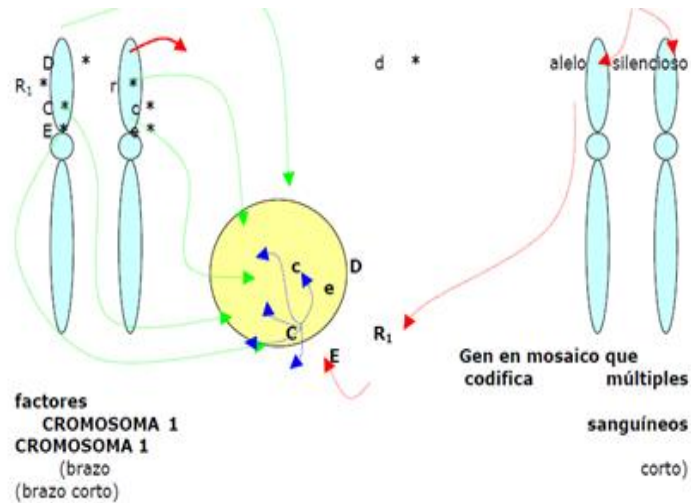
El sistema Rhesus está constituido por unos 40 antígenos distintos, 5 de los cuales revisten importancia especial. Existen dos nomenclaturas para designar los distintos antígenos del sistema Rh.

a) La de Fisher - Race que se basa en la suposición que se heredan de cada progenitor tres genes situados en locus muy próximos o dicho de otra forma, tres sitios correspondientes a genes diferentes estrechamente ligados que intervienen en la producción de los antígenos Rhesus. Los pares de alelos más comunes que pueden ocupar dichos locus, se designan con los signos Dd, Cc y Ee; cada gen codifica un antígeno específico dando origen a los antígenos D, C, c, E y e a excepción del d (alelo silencioso), del que no se conoce producto. El más inmunógeno es el antígeno D; por lo tanto, la presencia o ausencia del mismo determina si un individuo es Rh (+) o Rh (-). Dado que D es el antígeno Rhesus más potente, anti - D es el anticuerpo que se produce más comúnmente. Anti C es relativamente raro y es más común que se produzca con anti - D. El término que se utiliza habitualmente de Rh positivo se refiere a células que reaccionan con anti - D.

b) Según Wiener, la terminología se basa en la herencia de un solo gen, compuesto por múltiples alelos de un locus único procedente de cada progenitor.

Cada gen tiene una estructura en mosaico que comprende un número variable de antígenos sanguíneos. (BAEZ, 2003).

Figura 7: Variación antigénica Rh.



Fuente:(BAEZ, 2003)

Teniendo en cuenta lo expresado por Tippett, y análisis inmunoquímicos posteriores, revelarían que los antígenos del Sistema Rh son proteínas de transmembrana codificadas por genes que se encuentran en el brazo corto del cromosoma 1 (RHD - RHCE) y en el cromosoma 6 (RHAG).

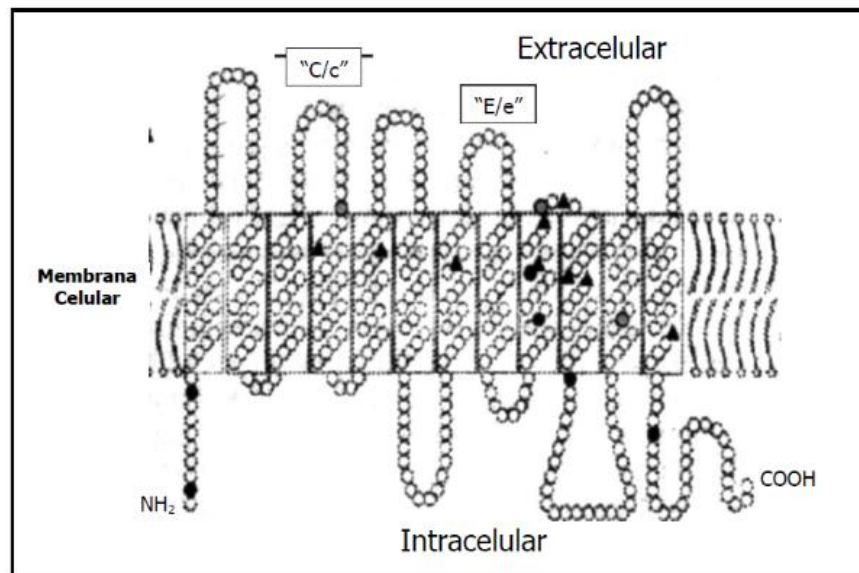
El gen del cromosoma 1 (RHD - RHCE) codificaría proteínas de 417 aminoácidos, que se encuentra integrada a la bicapa de la membrana del eritrocito, estas proteínas tendrían un PM de 30.000 a 50.000 y con una similitud del 92% entre ambas; pasarían la membrana hasta 12 veces formando 6 rulos externos, hidrofílicos, que generarían los dominios de asociación antigénica.

Estas proteínas son parte integrante (proteína integral) de la membrana eritrocitaria (sólo se lo encuentra allí). Como vemos son muy iguales entre sí y diferirían entre 30 a 36 aminoácidos.

En cuanto a las diferencias antigénicas entre "D" y "C" "c" estarían expresadas en el segundo rulo extracelular y entre "D" y "E" "e" lo estarían en el cuarto.

Se desconoce el papel biológico de las proteínas Rh, se cree que actuarían como transportadores de cationes. Pero tendrían una importancia fundamental en la estructura de la membrana del hematíe ya que se comprobó que, su ausencia (en los muy raros casos "Rh null") compromete a la morfología eritrocitaria de tal manera que produce verdaderos esferocitos, con una viabilidad globular obviamente disminuida.

Figura 8. Exposición de antígenos Rh.

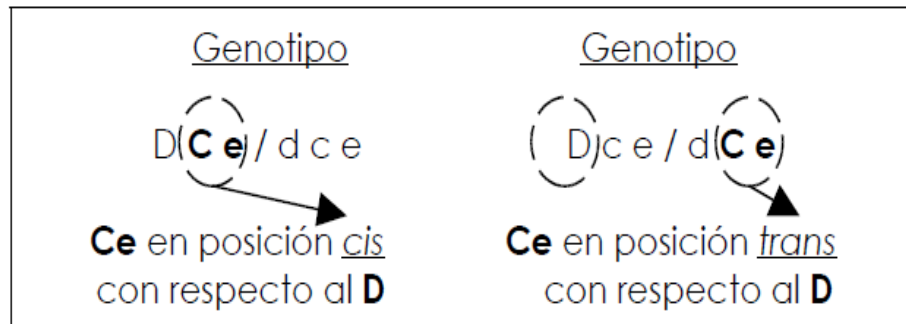


Fuente:(GARGIULO, 2005)

FENOTIPO D DÉBIL

Los eritrocitos de fenotipo D débil poseen un número menor de sitios antigénicos, puede deberse a un gen que produce menor cantidad de antígeno, antiguamente llamado Du de alto grado, o ser resultado del efecto supresor del haplotipo "Ce" en posición "trans", Dude bajo grado.

Figura 9. Distribución de fenotipos.



Fuente:(GARGIULO, 2005)

Como en estos casos no se trata de una diferencia cualitativa sino debido puramente a una menor cantidad de sitios antigénicos, el término **D_u** propuesto por Stratton en 1949, debe ser abolido y reemplazado por el de **D débil**. Algunos fenotipos D parcial pueden presentar una disminución cuantitativa del antígeno D, pudiendo ser erróneamente clasificados como D débil, debido a que la identificación de éste fenotipo depende fundamentalmente del reactivo "anti D (Rho)" y del método utilizado para su investigación. Se deberían tomar precauciones al realizar la vieja técnica del **D_u** (terminar, luego de la incubación con reactivo anti-D, con SAGH - PAI) ya que puede llevar a tipificar erróneamente a un dador/paciente Rh negativo, portador de un auto o aloanticuerpo, cómo Rh positivo (**D_u** Positivo). Por este motivo algunos autores abogan por el abandono en forma definitiva de esta prueba.

FENOTIPO D PARCIAL




Se descubrieron algunos raros casos en que individuos, que habían sido fenotipados cómo Rh positivos, es decir son portadores del antígeno D igual se sensibilizaban (producían anticuerpos anti-D) al ser estimulados con glóbulos rojos portadores de dicho antígeno (transfusiones – embarazos).

Estudios posteriores demostraron que los eritrocitos con este fenotipo se caracterizan por la ausencia de uno o más epitopes del mosaico que componen el antígeno "D", de

ahí la capacidad de producir aloanticuerpos específicos hacia él o los epitopes faltantes, al ser inmunizados con glóbulos rojos Rh D positivo. De acuerdo al comportamiento que presentan los glóbulos rojos Fenotipo “D” parcial al ser enfrentados con sueros de individuos D-negativos sensibilizados, fueron agrupados inicialmente, en siete categorías.

1. Para estudiar donantes y recién nacidos (sensibilizantes): se debería usar un Anti D que reaccione con eritrocitos D_{VI} (policlonal-IgG o policlonal-IgM salino o policlonal IgG químicamente modificado) en pruebas directas o en fase antiglobulínica.
2. Para pacientes y embarazadas: un reactivo Anti D monoclonal que no detecte esta variante y que reaccione con los D débiles (Monoclonal Blend o Monoclonal IgG + IgM o Mezcla mono-policlonal), se deben usar sólo en pruebas directas en platina o tubo y no en fase antiglobulínica. De esta manera al no ser detectada dicha variante, serían caratulados como D-negativos y transfundidos con sangre D negativa. Por esta misma razón las púerperas recibirían, también inmunoprolifaxis anti-D.

Figura 10. Variación antigénica D.

	Delección de Rh (-D-)		Rh nulo (---)	
Morfología de los hematíes	Normal		Esferocito	
			Estomatocito	
Antígeno Rhesus	Aumento del número de antígenos D por hematíes		No se expresan los antígenos C, c, E, e ni D	
Supervivencia in vivo e in vitro	Normal		Reducida	

Fuente:(GARGIULO, 2005)

OTROS ANTÍGENOS.

Después del "D" los antígenos **C, c, E y e** son los de mayor importancia en el Sistema, estos 5 antígenos son los responsables de más del 99% de los problemas clínicos relacionados con dicho sistema; ya que algunos individuos que carecen de la expresión de alguno de ellos, pueden cuando son inmunizados, producir anticuerpos contra el antígeno faltante.

Antígenos "C" y "c"

El antígeno "C" tiene una frecuencia aproximada del 68% en la población general, frente a una frecuencia del 81% del antígeno "c", este último es el más inmunógeno luego del D y como tal es causante de riesgo en la E.H.R.N.

Antígenos "E" y "e"

El antígeno "E" tiene una frecuencia del 27% en la población general mientras que el "e" ronda cercano al 98%. Algunos antígenos significativos de baja frecuencia.

Cw: (originariamente denominado Willie) ubicado con el N° Rh 8, es producido por un gen Cw/C o Cw/c puede ocasionar EHRN.

Ew: es mucho más raro, ubicado como Rh 11.

Ce: o Rh 10 es un antígeno compuesto, producto de la unión de genes ya que se encontró un anticuerpo no separable anti-Ce cuando se encuentra en posición cis-Dce o dCe- (Ro o r').

Ce: antígeno "f" o Rh 6 al igual que el anterior determina un componente antigénico cuando ambos se encuentran en posición cis.

CE, antígeno Jarvis o Rh 22 es producto de genes DCE y dCE (Rz y ry) Anticuerpos del Sistema.

Los anticuerpos del sistema son generalmente producto de una respuesta inmune aunque algunos pueden ser de ocurrencia natural, alrededor del 2%.

El anticuerpo inmune más comúnmente encontrado es el anti-D, que puede ser detectado en la fase de antiglobulina, como así también empleando ciertos potenciadores, como los medios de baja fuerza iónica, medios coloidales (albúmina bovina al 22% y polietilenglicol), medios enzimáticos o Polybrene.

La mayoría de éstos IgG anti-D son predominantemente IgG1 – IgG3 en individuos hiperinmunizados, aunque en las embarazadas es más frecuente encontrar una sola clase de IgG. Tanto en un caso como en el otro, estos anti-D no suelen provocar hemólisis intravascular, la explicación sería, primero porque la subfracción de inmunoglobulinas que lo componen son en líneas generales poco fijadoras de complemento, y segundo porque los sitios D 9 THeI DGS – 09 - 05. Están muy separados en la superficie eritrocitaria quedando por lo tanto las moléculas muy distantes entre sí.

Algunos sueros contienen mezclas de IgG e IgM, también se detectó IgA, pero siempre como un componente de menor cuantía y asociado con la hiperinmunización.

En sueros de pacientes que forman un anticuerpo anti-Rh distinto al “D”, los más comúnmente encontrados son el anti-c y el anti-E. Con respecto al anti-c se debe destacar que siempre es de origen inmune y es el más importante desde el punto de vista clínico luego del anti-D, ya que es productor de EHRN y RHT; en cambio el origen inmune del anti-E es raro, aunque más común que el anti-C, casi siempre es de origen natural y no inmune suele, en ocasiones, ser no detectado en SAGH, la mayoría reacciona en pruebas potenciadas con Polybrene, Enzimas o LISS.

La existencia de anti-C sin anti-D es rara, dada su baja antigenicidad, la frecuencia de aparición es de 1/10000. (GARGIULO, 2005).

2.2.2.3 MÉTODOS Y TÉCNICAS PARA LA DETERMINACIÓN DE LOS ANTÍGENOS DEL SISTEMA RH.

- 1.- Rotular tubos de ensayos con: C, c, E, e (control) CDE
- 2.- Colocar 1 gota de antisueros comerciales Anti-C, Anti-c, Anti-E, Anti-e y Anti-CDE a cada tubo rotulado con la letra correspondiente al antisuero.
- 3.- Colocar una gota de células suspendidas (100 ul de sangre total o 50 ul de CGR en 1 ml de solución salina agite antes de dispensar), al fondo del tubo sin introducir la pipeta.
- 4.- Agite e incube a temperatura ambiente por 5 minutos.
- 5.- Centrifugue a 15 segundos 3000 rpm (programa P5)
- 6.- Re suspenda cuidadosamente cada tubo y haga la observación macroscópica

REPORTE DE RESULTADOS.

Una reacción positiva (+) indica la presencia del antígeno correspondiente.

Una reacción negativa (-) indica la ausencia del antígeno correspondiente.

Tabla 4. Esquema de tipificación Rh.

TUBOS	MUESTRA	ANTI-D	ANTI-C	ANTI-c	ANTI-E	ANTI-CDE	ANTI-CDE
D	1 GOTA	50UL					
C	1 GOTA		50UL				
c	1 GOTA			50UL			
E	1 GOTA				50UL		
e	1 GOTA					50UL	
CDE	1 GOTA						50UL

Fuente:(JARAMILLO, 2012)

Materiales:

- Muestra de sangre procedente de los servicios de hospitalización en tubo tapa lila o en capilares (Heparina).
- Tubos de ensayos 12x75
- Sueros comerciales Anti-C, Anti-c, Anti-E, Anti-e, Anti-CDE.
- Visor calefactado

Notas del procedimiento.

- La contaminación bacteriana de los materiales empleados puede ocasionar resultados falsos negativos o positivos.
- Suspensiones de hematíes demasiado concentradas o débiles interfieren en los resultados.(JARAMILLO, 2012).

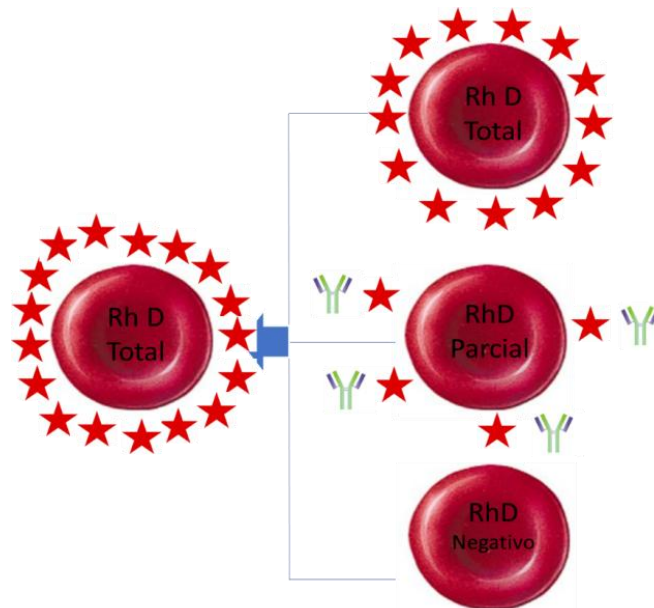
2.2.3 COMPATIBILIDAD DE MUESTRAS RHD TOTALES Y PARCIALES.**2.2.3.1 ENFRENTAMIENTO Y COMPATIBILIDAD RHD TOTAL CON D PARCIAL.**

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

A este fenómeno se le denomina aloinmunización antieritrocitaria, en caso de Ac contra Ag eritrocitarios, o antiplaquetaria en caso de Ac contra Ag de las plaquetas. Los Ac pueden aparecer de forma natural (los Ac contra Ag del sistema AB0, que aparecen en todos los individuos), o provocados por transfusión o embarazo. A los Ac aloinmunes contra Ag eritrocitarios, diferentes a los del sistema AB0 se les denomina anticuerpos irregulares (AI).

Las consecuencias clínicas de la aloinmunización dependen del tipo de Ac (IgG o IgM), del título del mismo así como de la célula destruida. Los Ac eritrocitarios producen reacción hemolítica inmediata grave (Ac AB0), menos grave o retardada (Ac frente a otros Ag) y la enfermedad hemolítica del recién nacido. En el caso de Ac anti plaquetarios, pueden provocar reacciones febriles transfusionales, refractar edad plaquetaria (Ac HLA o propios de las plaquetas) y la púrpura neonatal inmune. (JARAMILLO, 2012)

Figura11. Enfrentamiento RhD y Rh parcial.



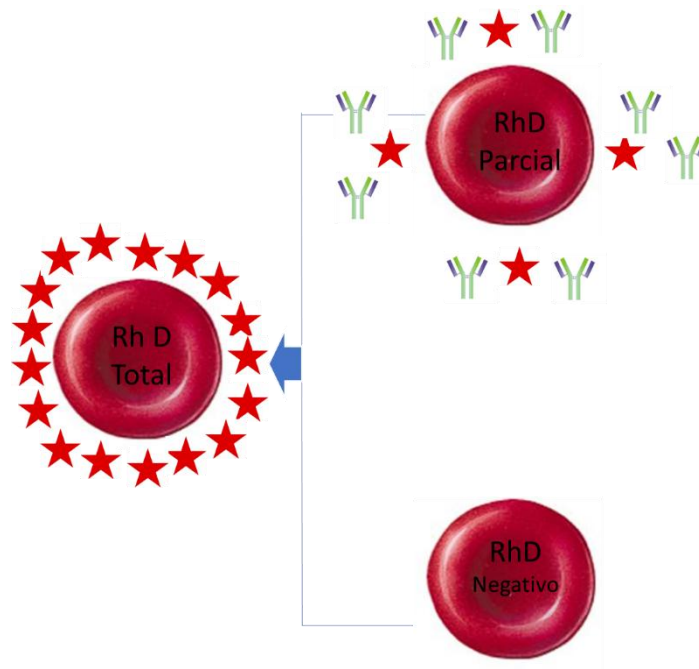
Fuente:(JARAMILLO, 2012)

Esta imagen representa la compatibilidad entre un donante RhD total que tienen en su entorno hemático los antígenos D en gran cantidad con sangre Rh parcial, el cual posee también antígenos D pero con carga de anticuerpos anti-D. Esta unión permite que los antígenos del donante reaccionen con los anticuerpos del receptor por unirse en las pruebas de compatibilidad antígenos y anticuerpos específicos, este tipo de transfusiones no deben proceder, en traducción para el organismo se dará la reacción hemolítica así ingrese pocos milímetros de sangre.

Las personas tituladas como RhD Parciales poseen antígenos D en expresión parcial y no completa de este antígeno, alteración normal que permite la producción de anticuerpos para antígenos D, en este tipo de personas no reaccionan en su organismo si no cuando reciben antígenos D completos. (JARAMILLO, 2012).

2.2.3.2 ENFRENTAMIENTO Y COMPATIBILIDAD RHD PARCIAL CON RHD NEGATIVO.

Figura 12. Compatibilidad RhD-P y RhD negativo.



Fuente:(JARAMILLO, 2012)

La práctica transfusional, de sangre RhD parcial permite enfrentar en el receptor o paciente hematocitos que contengan una serie de antígenos compatibles con el receptor, en el caso de los parciales se genera un anticuerpo natural llamado anti-D, al unirse con sangre que carece del antígeno D, se puede enfrentar los hematocitos sin problema de provocar una reacción hemolítica inmediata o tardía, debido a que la sangre de negativa representa la expresión nula de este antígeno sin embargo la compatibilidad debe estar dada por los otros antígenos del sistema Rh, a los que se denominan antígenos mayores y menores, se ha citado que la compatibilidad está

dada por los antígenos totales que son enfrentados hacia el suero que posee anticuerpos en el receptor. (JARAMILLO, 2012).

2.2.3.4 HEMODERIVADOS COMPROMETIDOS EN LA REACCIÓN HEMOLITICA D TOTAL CON D PARCIAL.

2.2.3.4.1 CONCENTRADOS GLOBULARES.

La transfusión de concentrado de glóbulos rojos está indicada en los casos que se requiera aliviar síntomas y disminuir la morbilidad causada por déficit de aporte de oxígeno a los tejidos como resultado de la anemia, debiendo siempre tomarse en cuenta las cifras de presión arterial, frecuencia cardiaca, saturación de hemoglobina, dificultad respiratoria, etc. antes de la decisión clínica de transfundir.

Figura 13. Concentrado de glóbulos rojos.



Fuente:(JARAMILLO, 2012)

La anemia se define como la reducción en el número de hematíes, en el valor de hematocrito o en la concentración de la hemoglobina por debajo de dos desviaciones estándar de la media de los valores referenciales que dependen de varios factores como la edad, áreas geográficas, etnias, embarazo, etc.

La consecuencia más importante de la anemia es una reducción del aporte de oxígeno (DO₂) a los tejidos, la cual está determinada por: la concentración de hemoglobina en la sangre, su saturación, la velocidad con la que la sangre circula hacia los tejidos (en general, el gasto cardíaco), y la eficiencia con la cual la hemoglobina descarga el oxígeno a los tejidos.

Su empleo requiere la realización de pruebas cruzadas, debiéndose transfundirse unidades ABO y Rh compatible con la sangre del paciente. El tiempo de vida de los concentrados de glóbulos rojos depende del tipo de anticoagulante utilizado: bolsas con citrato-fosfato-dextrosa-adenina-1 (CPDA-1) se puede almacenar hasta por 35 días entre 2° C y 6° C y cuando se utiliza ADSOL 42 días. (MSP, 2013).

2.2.3.4.2 CONCENTRADOS GLOBULARES LEUCORREDUCIDOS.

Figura 14. Concentrado de glóbulos leucorreducidos.



Fuente:(JARAMILLO, 2012)

El objetivo de este componente es similar al del concentrado de glóbulos rojos normales o con residuo plasmático. Su obtención parte de la centrifugación de la sangre total, por procedimientos automatizados, se separa el contenido plasmático, luego el contenido plaquetario junto con los leucocitos, para dejar una masa eritrocitaria pura y viscosa.

Se pueden obtener a través del empleo de filtros especiales que eliminan el 99,9% de los leucocitos por lo que el recuento residual de leucocitos debe ser $< a 1 \times 10^6$. En los concentraos plaquetarios $< a 1 \times 10^6$. Su preparación es costosa, por eso deben existir indicaciones específicas para su uso.

Estos componentes están indicados en:

1. Pacientes que hayan tenido episodios repetidos o graves de reacciones transfusionales, alérgicas y / o febriles para su prevención o disminución.
2. Como prevención de aloinmunización en pacientes que deberán recibir soporte hemoterapéutico a largo plazo, tales como los portadores de anemias congénitas, anemia aplástica, renales crónicos, etc.
3. Prevenir la transmisión de citomegalovirus por componentes celulares. Su utilización está relacionada para evitar complicaciones por incompatibilidad HLA. En pacientes politransfundidos, pacientes sometidos trasplantes. (MSP, 2013).

Tabla 5. Pérdida de la volemia.

Severidad de la	Clase I	Clase II	Clase III	Clase IV
Pérdida de sangre (ml)	<750	750-1500	1500-2000	>2000
Frecuencia de pulso	<100	>120	>120	>140
Tensión Arterial (mmHg)	Normal	Disminuida	Disminuida	Disminuida
Presión de pulso (mmHg)	Normal	Disminuida	Disminuida	Disminuida
Frecuencia respiratoria	14-20	20-30	30-40	>40
Diuresis (mL/hora)	>30	200	5-15	
Estado de la conciencia	Leve ansiedad	Moderada ansiedad	Confusión	Letargia

Fuente:(MSP, 2013)

2.2.4 VALIDACIÓN DE LOS ENSAYOS ANTIGLOBULÍNICOS.

La realización de las pruebas pre transfusionales sirve para seleccionar para cada receptor los componentes sanguíneos más adecuados para que una vez transfundidos tengan una supervivencia óptima y no se produzca una destrucción clínicamente significativa de los hematíes del receptor.

Realizar correctamente las pruebas pre-transfusionales asegura que se administre a un paciente los componentes sanguíneos designados, que estos componentes sean ABO compatibles y que se puedan detectar la mayoría de anticuerpos irregulares clínicamente significativos.

En las pruebas pre-transfusionales se incluyen:

- Identificación positiva del receptor y de la muestra de sangre de este.
- Revisión de los registros del servicio de transfusiones para buscar resultados previos de las muestras del receptor (historial receptor).
- Determinación de grupo ABO y Rh (D).
- Determinación de anticuerpos irregulares.
- Pruebas de compatibilidad con el suero o plasma del receptor y los hematíes del donante (pruebas cruzadas).
- Etiquetado de los componentes con la información del receptor.

2.2.4.1 PRUEBAS CRUZADAS.

Se define la compatibilidad en transfusión como la falta de reacción inmune entre antígenos (Ag) y anticuerpos (Ac) de donante y receptor. La compatibilidad no garantiza identidad entre ambos, solamente indica que, en ese momento, no habrá disminución de rendimiento transfusional por causa inmune. La compatibilidad eritrocitaria puede explorarse mediante diferentes pruebas de laboratorio, implicando cada una de ellas un tiempo de realización, un costo y una disponibilidad de la sangre.

La negatividad de las Pcom (pruebas cruzadas) asegura la compatibilidad entre donante y receptor, pero no evita la reacción hemolítica retardada ni la aloinmunización.

En todo paciente candidato a transfusión se deben llevar a cabo la determinación de Grupo AB0, Rh (D) y AI (anticuerpos irregulares) en una muestra de sangre correctamente identificada y con una petición en la que consten antecedentes transfusionales, gestaciones, trasplantes, diagnóstico y grado de urgencia de la transfusión. La extracción de la muestra será reciente (inferior a 7 días) y, si el paciente ha sido transfundido en los últimos tres meses, con menos de 48 horas.

Si el paciente es estudiado por primera vez en el Banco, en esta muestra se determinará el grupo AB0 en prueba sérico/hemática, Rh (Ag D con control) y cribado de AI, que determinan la presencia de anticuerpos frente a la mayoría de los Ag eritrocitarios diferentes del sistema AB0.

El tiempo de realización de estas pruebas es de unos 10 minutos (3-5 en casos de urgencia) para el AB0 y Rh y de 30-45 minutos para los AI. Los resultados de estas pruebas pueden archivarse para ser consultados en caso de futuras transfusiones. El AB0 y Rh puede utilizarse indefinidamente, o incluso comprobarse en una prueba rápida. Los resultados de los AI serán válidos si desde que se estudió el paciente éste no ha sido transfundido o, en caso de transfusión, si han transcurrido menos de 48 h. En caso de transfusión o embarazo, es necesario repetir los AI por si ha habido una aloinmunización.

Actualmente, la composición específica de los hematíes (representación de los Ag clínicamente significativos y homocigocia para Ag, Jk, Fy, etc.) reactivos y técnicas empleadas (incluir siempre antiglobulina humana) en la determinación de AI hacen que esta prueba sea muy segura. Cuando los AI son negativos, se tiene una alta fiabilidad de que el paciente no tiene Ac contra Ag eritrocitarios.

La posibilidad de disponer de esa información antes de la transfusión hace que sea una determinación muy importante.

PRUEBA CRUZADA MAYOR

Consiste en mezclar el suero o plasma del receptor con las células sanguíneas del donador después de incubar centrifugas y buscas la presencia o ausencia de aglutinación esto es indicativo de compatibilidad o incompatibilidad según el caso. Esta prueba se realiza cuando se va transfundir paquete globular.

Los hematíes y el suero han de ser incubados el tiempo suficiente para que puedan reaccionar incluso los Ac muy poco potentes; por lo que es necesario añadir suero antiglobulina después de la incubación para detectar los Ac que recubren a los hematíes pero que no llegan a aglutinarlos. La prueba debe comprobarse mediante controles.

Para preparar la suspensión de hematíes del donante se utiliza la sangre contenida en los segmentos de la bolsa (macarrones). (CONTRERAS, 2006).

REACTIVOS, SUMINISTROS Y EQUIPOS

- Albúmina bovina 22% o Liss
- Suero de Coombs
- Células control de Coombs (sensibilizadas con IgG)
- Tubos de vidrio 12 x 75 mm
- Pipetas pasteur
- Centrífuga
- Baño María a 37°C
- Gradilla para prueba cruzada
- Lámpara
- Lente de magnificación
- Microscopio.

TÉCNICA

FASE I: CENTRIFUGACIÓN SALINA INMEDIATA

- Preparar una suspensión de GR del donante (paquete globular)
- Marcar 1 tubo de 12 x 75 mm. con el rotulo PC
- Colocar 2 gotas del suero problema.
- Colocar una gota de los GR del donante suspendido
- Mezclar, centrifugar los tubos a 3 500 r.p.m. durante 15 segundos.
- Observar la presencia de hemólisis y/o aglutinación, hacer la lectura por cruces y anotar los resultados.

FASE II: TÉRMICA

- Agregar 2 gotas de Albúmina bovina al 22% o Liss al tubo. Mezclar, centrifugar a 3500 r.p.m. durante 15 segundos, leer la hemólisis y/o aglutinación hacer la lectura por cruces y anotar los resultados
- Incubar en baño maría a 37 °C durante 30 minutos (albumina) o 15 minutos (Liss).
- Centrifugar, observar hemólisis y/o aglutinación y anotar los resultados.

FASE III: ANTIGLOBULÍNICA

- Lavar 3 veces con solución salina fisiológica al 0.9%.
- Se llena el tubo hasta cerca al borde con solución salina 0.9%. Se centrifuga a 3500 r.p.m., durante 1 minuto.
- Se decanta todo. Se adiciona 1 a 2 gotas de salina, se resuspender el botón, se vuelve a llenar y se repite el paso anterior.
- Agregar 2 gotas de Antiglobulina humana Mezclar, centrifugar (3500 rpm por 15 segundos) y leer

- Los resultados negativos deben ser comprobados con la célula control de Coombs.

Interpretación

- Si No hay hemólisis y/o aglutinación: Prueba cruzada compatible.
- Si hay hemólisis y/o aglutinación: Prueba cruzada incompatible. (JARAMILLO, 2012).

Tabla 6. Interpretación pruebas de compatibilidad

Prueba	Tubos Prueba	Tubos control	C.C.C
Cruzada Mayor	Negativo	Negativo	Positivo
Cruzada Menor	Negativo	Negativo	Positivo
Interpretación	Compatible	Compatible	Prueba exitosa

(JARAMILLO, 2012)

2.2.4.2 DISCREPANCIAS DE RESULTADOS.

Se produce una discrepancia cuando la interpretación de las pruebas de determinación del grupo hemático no coincide con el sérico. En estos casos deben anotarse los resultados discrepantes.

La interpretación del grupo ABO y Rh debe retrasarse hasta que se resuelva la discrepancia. Si la sangre que se está analizando es una unidad de donante, no puede autorizarse para transfusión hasta resolver la discrepancia de resultados. Cuando la sangre proviene de un posible receptor, el estado clínico del paciente puede hacer necesario administrar hematíes del grupo O con factor Rh compatible antes de finalizar el estudio. Es importante obtener cantidades suficientes de sangre de un paciente antes de la transfusión para que puedan realizarse los estudios adicionales que puedan ser necesarios para resolver la discrepancia.

Las discrepancias entre los resultados de las pruebas hemática y sérica pueden deberse:

Errores técnicos

Los problemas técnicos pueden producir discrepancias en las pruebas ABO bien por la obtención de resultados negativos en lugar de positivos o positivos en lugar de negativos. Los problemas técnicos que producen falsos negativos en las pruebas ABO realizadas con hematíes o suero son debidas a:

- No añadir suero o antisuero a una prueba.
- Identificar la hemólisis como negativa.
- Inadecuada relación suero (o antisuero)/hematíes.
- Centrifugado incorrecto.
- No incubar a temperatura de 20-25°C o menos.
- Uso de reactivos que no funcionen adecuadamente.
- No interpretar o registrar los resultados correctamente.

Los problemas técnicos que producen falsos positivos en la prueba

- Sobrecentrifugación
- Uso de antisueros, hematíes o solución salina contaminados.
- Uso de utensilios de vidrio sucios.
- Interpretación o registro incorrecto de los resultados.

Factores intrínsecos de los hematíes

- Las muestras obtenidas de pacientes que han recibido recientemente transfusiones o trasplante de médula ósea pueden dar lugar a reacciones inesperadas si contienen una mezcla de hematíes no homogéneos en cuanto a su grupo ABO y Rh.
- Las muestras de sangre de personas que han heredado variantes de genes A, B y Rh pueden tener antígenos débilmente expresados. También pueden detectarse

antígenos débilmente expresados en los hematíes de algunos individuos con enfermedades como la leucemia. Las muestras de estos pacientes pueden no producir las reacciones esperadas en las pruebas de aglutinación directas con anti-A, anti-B y anti-D

- Las anomalías de naturaleza heredada o adquirida que conducen a lo que se llaman estados poliaglutinables pueden dar lugar a hematíes con membranas modificadas. Los hematíes modificados pueden aglutinarse inesperadamente por reactivos anti A, anti B o ambos.
- Las concentraciones anormales de proteínas séricas, la presencia de macromoléculas (en muestras de sangre de cordón, la presencia de gelatina de Wharton), pueden producir agregaciones inespecíficas que simulan la aglutinación si se suspenden los hematíes en su propio suero.
- Se ha observado que, en raras ocasiones, las concentraciones elevadas de sustancias del grupo A o B en suero inhiben la actividad de los antisueros de tal manera que se obtienen reacciones negativas inesperadas cuando se utilizan hematíes resuspendidos en suero o plasma.
- Los sueros de algunas personas contienen anticuerpos contra los colorantes utilizados para colorear los reactivos anti A y anti B. Estos anticuerpos pueden producir falsos positivos en las reacciones de aglutinación si se suspenden los hematíes en suero o plasma para realizar la prueba. (FERNANDEZ, 2006).

Factores intrínsecos del suero

- Frecuentemente, en las pruebas de determinación del grupo ABO que utilizan plasma o suero no totalmente coagulado se producen pequeños coágulos de fibrina. Los coágulos de fibrina pueden interpretarse erróneamente por una aglutinación verdadera.
- Los sueros de pacientes con concentraciones séricas anormalmente elevadas de proteínas anómalas, que presentan relación suero/proteínas alterada, o que han recibido expansores del plasma de elevado peso molecular o materiales de

contraste intravenoso pueden dar lugar a una agregación inespecífica de los hematíes en las pruebas de determinación del grupo sérico. Esta agregación es difícil de distinguir de una aglutinación verdadera.

- La muestra puede contener anticuerpos distintos a los anti A y anti B que produzcan una aglutinación inesperada de los eritrocitos reactivos A y B.
- Pueden presentarse resultados débiles o negativos inesperados en las pruebas séricas si la muestra que se está analizando proviene de una persona inmunodeficiente debido a una enfermedad o tratamiento y tiene niveles descendidos de inmunoglobulinas. También pueden observarse pruebas ABO séricas débiles en muestras de pacientes ancianos cuyos niveles de anticuerpos han disminuido con la edad, y en muestras de pacientes cuyos anticuerpos se han diluido de manera importante en procedimientos de recambio plasmático
- En las pruebas séricas, el suero del paciente puede contener anti-A y anti-B inusualmente potentes que fijan el componente C1 del complemento hasta tal punto que éste interfiere con la fijación del anticuerpo y la aglutinación. Este fenómeno ha sido publicado por un laboratorio en pruebas de detección de grupo en suero que utilizaban hematíes suspendidos en diluyentes sin EDTA. (FERNANDEZ, 2006).

2.2.2.4.3 ALTERACIONES DE RESULTADOS DE COMPATIBILIDAD POR ANTICUERPOS.

AUTO ANTICUERPOS FRÍOS

Cuando crioaglutininas tienen potencia suficiente, pueden aglutinar hematíes de todos los adultos, incluyendo aquellos utilizados para preparar hematíes reactivos. Con pocas excepciones, la aglutinación producida por crioaglutininas es más débil que la producida por anti A o anti B. Pueden seguirse los pasos siguientes cuando la reactividad de las autoaglutininas interfiere hasta el punto de dificultar la interpretación.

Calentar el suero y los hematíes reactivos a 37°C antes de mezclarlos y realizar la prueba.

Adsorber las crioaglutininas del suero mediante métodos de auto adsorción en frío, así el suero adsorbido puede analizarse frente a los hematíes reactivos A1 y B.

Tratar el suero con DTT y analizarlo frente a hematíes reactivos A1 y B. Como el DTT destruye la actividad aglutinante de los anticuerpos IgM, las pruebas de determinación de grupo sérico que utilizan suero tratado con DTT deben convertirse en pruebas AHG en las que detectaremos la presencia de anticuerpos de la forma IgG.

ALOANTICUERPOS INESPERADOS

Los aloanticuerpos inesperados reaccionan a temperatura ambiente y pueden aglutinar los hematíes reactivos utilizados en las pruebas de detección de grupo sérico que tengan el antígeno correspondiente. Para determinar el grupo ABO correcto de los sueros que contengan otros aloanticuerpos fríos.

Analizar el suero frente a hematíes A y B que no tengan el antígeno correspondiente. Por ejemplo , si tenemos identificado como aloanticuerpo un anti M, analizar el suero frente a hematíes A ,M- y hematíes B ,M-, es decir que ni los hematíes A ni B tengan el antígeno M, para resolver la discrepancia.

FENÓMENO DE ROULEAUX.

El suero de pacientes con concentraciones anormalmente elevadas de proteínas séricas, que presenta una alteración de la relación suero/proteínas o han recibido expansores de plasma de peso molecular elevado, pueden dar lugar a que los hematíes parezcan aglutinados. Algunas de estas muestras producen Rouleaux. Su formación puede reconocerse fácilmente al microscopio si los hematíes están agregados formando las llamadas “pilas de monedas”. Más frecuentemente, estos sueros producen agregados que se manifiestan como masas de formas irregulares muy

parecidas a las masas aglutinadas por la acción de anticuerpos. Los resultados de las pruebas de determinación del grupo sérico pueden a menudo corregirse si se sigue el procedimiento siguiente: Diluir el suero para anular sus propiedades agregantes. Hacer una dilución $\frac{1}{4}$ del suero y analizar la dilución frente a hematíes autólogos. Si no se observa agregación, analizar el suero diluido frente a los hematíes reactivos. En la mayoría de los casos, aunque no en todos, los aloanticuerpos anti A y anti B reaccionarán a esta dilución. (VEGA, 1992).

DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS.

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

Anticuerpos naturales(o isoimmune): Son los anticuerpos que están presentes en el suero del individuo sin la evidencia de un estímulo antigénico previo. En el momento actual se sabe que los anticuerpos “naturales” dirigidos contra antígenos eritrocitarios son consecuencia del reconocimiento de estructuras antigénicas compartidas con bacterias del tubo digestivo.

Aseguramiento de la calidad: Es el conjunto de evaluaciones efectuadas en el proceso de producción de un bien o servicio con objeto de lograr la garantía de calidad propuesta.

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

Autosuficiencia: Aplicado a la organización de la transfusión de sangre, se define como la obtención de la satisfacción de todas las necesidades de sangre, hemocomponentes y hemoderivados de la población, con los recursos de la propia población y por medio de los recursos de la propia organización.

Baja de stock: Es el retiro de una unidad para su transfusión o descarte.

Banco de Sangre: Es la institución que se encarga de la promoción de la donación de sangre, la selección de donantes, la extracción de sangre entera o hemocomponentes de aféresis, procesamiento, calificación Inmunohematología, calificación serológica, crío preservación, conservación, distribución y control de calidad de los productos y los servicios.

Bioseguridad: Es la prevención de riesgo biológico aplicado al entorno de la Unidad de Medicina Transfusional. Se aplica al personal, donantes y pacientes.

Calificación o tamizaje serológico: Es el análisis de los marcadores infecciosos transmisibles por transfusión aplicada a una muestra de sangre obtenida de cada donante.

Categoría de un servicio de hemoterapia: Está dado por la complejidad de las funciones que cumple y la infraestructura de equipamiento, planta física y recursos humanos con la que cuenta.

Certificación:(De una Unidad de Medicina Transfusional) es el reconocimiento por parte de una organización social de que se cumplen los requisitos y se logra el certificado correspondiente.

Comité de Calidad: Es un Grupo de Trabajo dedicado a la garantía de la calidad. Propondrá, documentará y evaluará la política de calidad y la misión del Servicio de Banco de Sangre.

Competencia Funcional: Es la limitación de cada funcionario para cumplir determinadas funciones y tareas dentro de una Unidad de Medicina Transfusional.

Concentrado Plaquetario (CP): Es el hemocomponente que contiene la fracción de la sangre entera rica en plaquetas, suspendidas en aproximadamente 50 ml de plasma. Promediamente contiene $5,5 \times 10^{10}$ plaquetas por unidad.

Concentrado plaquetario de donante único (CPDU): Es el hemocomponente obtenido por aféresis a un solo donante, que contiene promediamente $3,0 \times 10^{11}$ plaquetas en unos 300 ml de plasma.

Eritrocitoferesis: Es la aféresis aplicada a la obtención intensiva de eritrocitos.

Fracción Pediátrica: (o Parcial Pediátrico) Es una unidad de ST, SD, PF o CP de pequeño volumen obtenido a partir de una unidad standard del hemocomponente respectivo.

Fraccionamiento del plasma: Es el proceso industrialización del plasma humano por medio del cual se aíslan, purifican, concentran, estabilizan y formulan las proteínas plasmáticas transformándolas en hemoderivados.

Reacción adversa: Es todo fenómeno negativo presentado en el transcurso o con posterioridad a la donación o transfusión de un hemocomponente o hemoderivado.

Recambio plasmático: Es el procedimiento terapéutico por el cual la aféresis se aplica a retirar Plasma Humano conteniendo un elemento patológico y su posterior sustitución con soluciones libres de plasma

Unidad de Medicina Transfusional: Es toda institución o parte de una institución donde se lleva a cabo cualquier actividad propia de la Medicina Transfusional.

2.3 HIPÓTESIS Y VARIABLES.

2.3.1 HIPÓTESIS.

Es útil la aplicación de la prueba antiglobulínica cuando se valora incompatibilidad Rh en muestras de sangre procedente del donante y receptor Rh D positivo totales y parciales.

2.3.2 VARIABLES

VARIABLE INDEPENDIENTE.

Test antiglobulínico.

VARIABLE DEPENDIENTE.

Valoración de la reacción hemolítica.

2.4 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	CONCEPTO	CATEGORIA	INDICADORES	INSTRUMENTO
Independiente: Test antiglobulínico.	Prueba que valora la presencia de inmunoglobulinas procedentes de estímulos antigénicos ocasionados por embrazosos o transfusiones incompatibles.	Prueba antiglobulínica directa e indirecta	Valoración de anticuerpos mediante la reacción de hemaglutinación	Guía de observación. Técnica para la identificación de anticuerpos irregulares mediante la práctica de coombs directo e indirecto.
Dependiente: Valoración de la reacción hemolítica.	Manifestación clínica del paciente al reaccionar in vivo hematíes con anticuerpos específicos.	Reacción hemolítica inmediata o tardía.	Reacción de aglutinación in vivo positiva o negativa.	Guía de observación. Formato de reporte de reacciones transfusionales.

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1 MÉTODO CIENTÍFICO.

En el presente trabajo investigativo es método científico ya que siempre va a explicar el porqué, de cómo son las cosas, porque suceden las cosas de una manera y no de otra. Siempre se va a realizar la explicación en términos de leyes, principios y normas. Este método se realiza siempre bajo la lógica y la razón. No tendría ningún sentido realizar un método científico con teorías ilógicas o imposibles. También es racional porque las ideas producidas se combinan de acuerdo a ciertas reglas lógicas, con el propósito de producir nuevas ideas. Se aplica la prueba antiglobulínica para valorar y prevenir la reacción a efecto de una transfusión de sangre donde se involucran elementos sanguíneos causantes en muchos de los casos de efectos nocivos para la seguridad del paciente.

MÉTODO DEDUCTIVO- INDUCTIVO.

El método deductivo nos da un razonamiento general a lo particular, de lo complejo a lo simple., estudia un fenómeno o problema desde el todo hacia las partes, la reacción transfusional que se previene con análisis de compatibilidad requiere de elementos que contienen a las fases de estudios para evaluar la causa de las reacciones que podrían ser evitadas por la transfusión. Con el método inductivo se realiza estudios de lo particular lo general emplea elementos de estudio como la experimentación, comparación, generalización, propone la estandarización de pruebas para proceder a una práctica transfusional segura.

APLICACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

Este método intenta siempre descubrir y entender los elementos que componen una totalidad, es decir, es muy importante que todas las ideas que han llevado a otra idea

mayor tengan sentido y, sobre todo, se entiendan bajo la lógica. La prevención de las complicaciones de salud en el paciente se pretende en el trabajo investigativo consecuencia de la transfusión de sangre que en términos de pruebas serían similares entre la sangre del paciente y receptor.

TIPO DE INVESTIGACIÓN

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

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

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

DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

Esta investigación fue de campo no experimental

De Campo: Debido a que el proceso investigativo se llevara a cabo en un lugar específico en este caso en el laboratorio de Inmunohematología del Servicio de Medicina Transfusional del Hospital Provincial General Docente de Riobamba.

3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

3.2.1 POBLACIÓN

La presente investigación está constituida por el total de 54 ensayos que se realizaron durante el período de investigación en el Servicio de Medicina Transfusional del Hospital General Docente de Riobamba.

3.2.2 MUESTRA

Se trabaja con la totalidad de la población por ser limitada en cantidad de ensayos realizados.

3.3 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

TÉCNICAS

- Observación
- Análisis documental de la información en apoyo al desarrollo del marco teórico.
- Recopilación bibliográfica

INSTRUMENTOS

Guía de observación: Ensayos antiglobulínicos directo e indirecto y guía de resultados de pruebas de compatibilidad.

3.4 ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.

3.4.1 IDENTIFICACIÓN RH POR INTENSIDAD DE REACCIÓN.

Tabla 1. Identificación Rh.

Intensidad de reacción	Cantidad	%
Intensidad 4+	48	89%
Intensidad 2+	2	4%
Intensidad 1+	4	7%
Total	54	100%

Diseño: Ana y María
Fuente: SMT – HPGDR

Gráfica 1: Identificación Rh.



Diseño: Ana y María
Fuente: SMT – HPGDR

Interpretación: Mediante la realización de la tipificación sanguínea para el antígeno D del sistema Rh, se evaluaron a 54 muestras de sangre obteniéndose los siguientes resultados, 54 muestras dan como resultado positivo para el antígeno D, pero de estas 48 muestras se evaluaron por intensidad de reacción máxima a cuatro cruces lo que indica que existe una gran concentración del antígeno D, dos ensayos con intensidad

de reacción para 2+ relacionándole a una cantidad menor de antígenos D y 4 ensayos para una reacción de 1+ lo que se concluye que está presente el antígeno D pero en una concentración mínima.

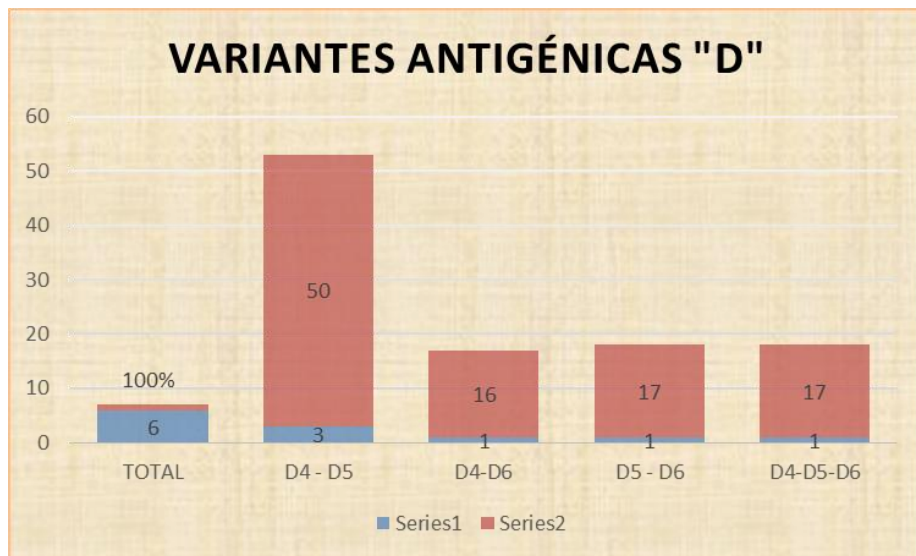
3.4.2 Variantes antigénicas D.

Tabla 2. Variante D

TOTAL	D4 - D5	D4-D6	D5 - D6	D4-D5-D6
6	3	1	1	1
100%	50	16	17	17

Diseño: Ana y María
Fuente: SMT – HPGDR

Gráfica 2: variantes D.



Diseño: Ana y María
Fuente: SMT - HPGDR

Interpretación: A los 6 ensayos con resultados positivos para el antígeno D de intensidad de reacción 2+ y 1+ se le valoraron las variantes antigénicas D1 hasta D6, los resultados en estas pruebas indican que tienen presente las variaciones antigénicas

desde D4 a D6. Tres ensayos tienen la variación D4 y D5, un ensayo la variación D4 y D6, un ensayo tiene la variación D5 y D6 y un ensayo las variaciones D4 -D5-D6, en conclusión las variaciones D4 a D6 se expresan en los RhD parciales ya que no poseen la totalidad de las variantes del antígeno D.

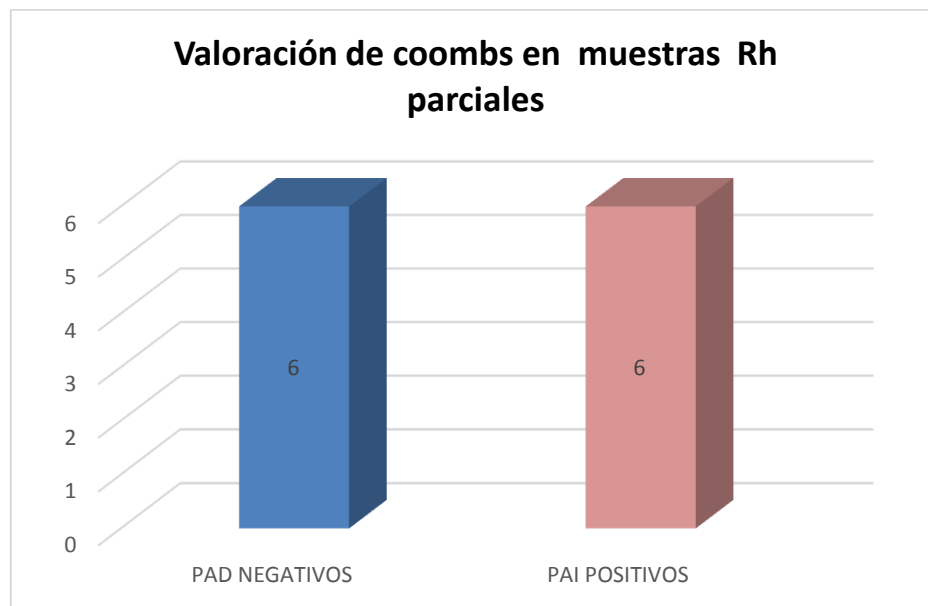
3.4.3 Valoración del Coombs Directo e Indirecto en RhD Parciales

Tabla 3. Coombs Directo e indirecto

COOMBS DIRECTO NEGATIVOS	COOMBS INDIRECTO POSITIVOS
6	6

Diseño: Ana y María
Fuente: SMT – HPGDR

Gráfica 3: Coombs directo e indirecto.



Diseño: Ana y María
Fuente: SMT - HPGDR

Interpretación: Las muestras de sangre valorados como RhD parciales fueron analizadas mediante la pruebas de Coombs directo, los resultados obtenidos son

negativos y para prueba de Coombs indirecto, los resultados son positivos. Estos resultados son valorados así por cuanto la estructura antigénica D parcial no permite la expresión de sus seis variantes D, lo que genera a consecuencia de estos la presencia de antígenos Anti-D como un proceso normal, sin embargo las pruebas de Coombs le concluyen a estas muestras tener un anticuerpo irregular.

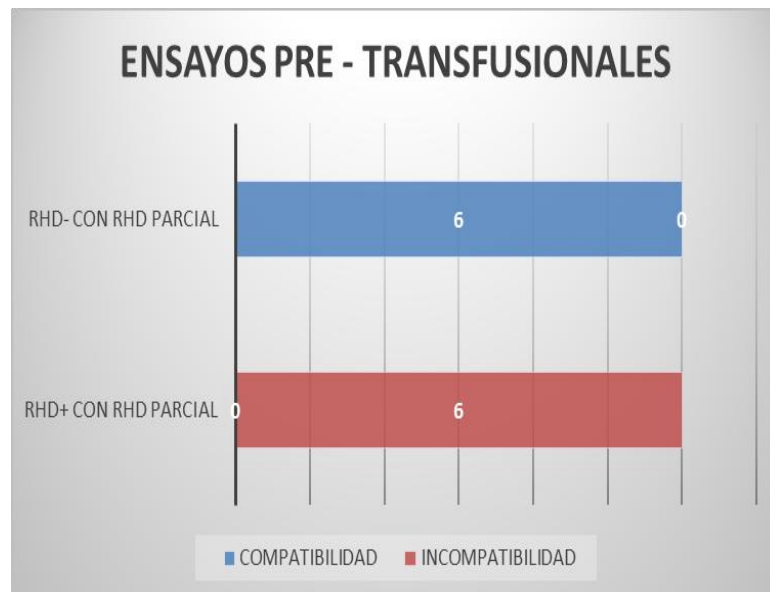
3.4.4 Análisis de compatibilidad pre transfusional con muestras RhD Parciales.

Tabla 4. Compatibilidad pre transfusional.

ENSAYOS	COMPATIBILIDAD	INCOMPATIBILIDAD
RHD+ CON RHD PARCIAL	0	6
RhD- CON RHD PARCIAL	6	0

Diseño: Ana y María
Fuente: SMT – HPGDR

Gráfica 4: Pruebas pretransfusionales.



Diseño: Ana y María
Fuente: SMT – HPGDR

Interpretación: Los ensayos de compatibilidad de sangre D parcial con D total dan como resultados no compatibles por poseer el D parcial el anticuerpo anti D que al unirse en los ensayos con el antígeno D en su expresión total genera in vitro la reacción positiva entre el antígeno D y anti-D, pero los ensayos D parcial con sangre D negativa se dan resultados compatibles, el anticuerpo anti-D del Rh parcial no se une al antígeno D de los Rh D negativos ya que este no posee ninguna variante antigénica D.

COMPROBACIÓN DE LA HIPÓTESIS.

HI: Es útil la aplicación de la prueba antiglobulínica cuando se valora incompatibilidad Rh en muestras de sangre procedente del donante y receptor Rh D positivo totales y parciales.

Tabla 5.Comprobación de la hipótesis.

PAI POSITIVOS	RH PARCIALES	PCM: DPARCIAL + D NEGATIVO	PCM: DPARCIAL + D NEGATIVO	EFFECTIVIDAD PAI
6	6	COMPATIBLES	COMPATIBLES	100%

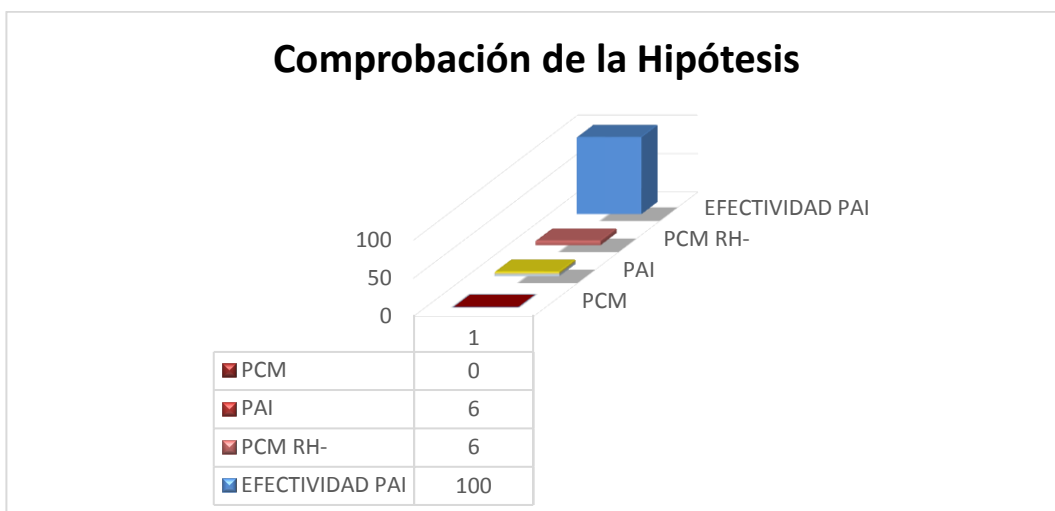
Diseño: Ana y María
Fuente: SMT – HPGDR

Tabla 6 .Efectividad del PAI

PCM	PAI	PCM RH-	EFFECTIVIDAD PAI
0	6	6	100

Diseño: Ana y María
Fuente: SMT – HPGDR

Gráfica 5. Comprobación de la hipótesis.



Diseño: Ana y María
Fuente: SMT – HPGDR

Si es útil aplicar el ensayo de pruebas antiglobulínicas cuando se valora incompatibilidad Rh en muestras de sangre procedente del donante y receptor Rh D positivo totales y parciales para prevenir reacciones adversas y nocivas por efecto de la transfusión.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

4.1 CONCLUSIONES.

- El empleo de las pruebas de Coombs, garantiza la práctica transfusional, en el estado post transfusión y la prevención de la incompatibilidad.
- El resultado de un ensayo de tipificación RhD positivo puede ser similar a los RhD parciales, su diferencia es la presentación parcial con anticuerpos anti-D como una expresión natural.
- El ensayo de compatibilidad realizado garantiza los resultados de las pruebas pre transfusionales que se han practicado a la unidad de sangre recolectada, así se podrá evidenciar reacciones in vitro y su prevención in vivo.
- Al emplear la prueba de Coombs directa post transfusional, con su resultado valoramos el estado inmunológico del paciente transfundido.

4.2 RECOMENDACIONES

- Se recomienda el empleo de las pruebas de Coombs como un proceso de control post transfusional, cuando se evidencian casos de compatibilidad especial o empleo de alternativas transfusionales, en la terapia transfusional.
- Es importante que se realice el ensayo antiglobulínico en donantes de sangre, ya que con esta prueba se evidencia anticuerpos que pueden ser de origen natural o inmune y con estos generar reacciones en la transfusión.
- Se recomienda valorar en los ensayos de compatibilidad la intensidad de la reacción de hemaglutinación, ya que existen situaciones especiales en que se procede a la transfusión de sangre menos incompatible o menos reactantes in vitro.

- Es importante realizar un control de la transfusión, por ello la recomendación de aplicar la prueba de Coombs directo; sobre todo en pacientes con grupos sanguíneos no frecuentes o especiales en su estructura inmunológica.

BIBLIOGRAFÍAS

LIBROS

1. BAEZ, B. (2003). Grupos sanguíneos. Coop & Baez.
2. CONTRERAS, B. (2006). Pruebas Cruzadas. Madrid.
3. FERNANDEZ, B. (2006). Estándares de acreditación sociedad española de Bancos de sangre. Barcelona.
4. GARCIA, A. (2009). Fundamentos de genética e Inmunología. Bogotá: Medicina & Laboratorio.
5. GARGIULO, D. (2005). Sistema Rh. Buenos Aires.
6. GONZALEZ, J. (2005). Anticuerpos irregulares y su importancia en medicina transfusional. México.
7. JARAMILLO, F. (2012). Inmunohematología aplicada a la medicina Transfusional. Riobamba.
8. LINARES, J. (1976). Inmunohematología básica aplicada a Bancos de Sangre. Caracas: Litotec.
9. LINARES, J. (1987). Inmunohematología. Caracas.
10. MAS, J. (2003).
11. VEGA, M. (1992). Manual de Medicina Transfusional 1ra. Edición. Barcelona: Arbeloda.

GUIA:

13. MSP. (2013). Transfusión de sangre y sus componentes - Guía de Práctica Clínica.

REVISTA:

14. SANANBRIA, V. (2007). Anticuerpos irregulares. Revista Médica UIS.

SITOS WEB:

15. <http://www.microinmuno.qb.fcen.uba.ar/SeminarioInmunologia2.htm>. Obtenido de <http://www.educadist.buap.mx/libros/Microplacas/Portada.htm>

16. http://educativa.catedu.es/44700165/aula/archivos/repositorio//3250/3413/html/22_funciones_de_los_ant Cuerpos.html

17. <http://drmime.blogspot.com/2011/11/madre-embarazada-y-grupo-sanguineo.html>

18. <http://laphysis.blogspot.com/2011/10/tema-4-fisiologia-del-eritrocito-ii.html>

ANEXOS

Valoración de antígenos RhD por intensidad de reacción.

NUMERO	ANTI-D	ANTI-CDE	INTERPRETACIÓN
1	++++	+++++	RhD positivo
2	++++	++++	RhD positivo
3	++++	++++	RhD positivo
4	++++	++++	RhD positivo
5	++++	++++	RhD positivo
6	++++	++++	RhD positivo
7	++++	++++	RhD positivo
8	++++	++++	RhD positivo
9	++++	++++	RhD positivo
10	++++	++++	RhD positivo
11	++++	++++	RhD positivo
12	++++	++++	RhD positivo
13	++++	++++	RhD positivo
14	++++	++++	RhD positivo
15	++++	++++	RhD positivo
16	++++	++++	RhD positivo
17	++++	++++	RhD positivo
18	++++	++++	RhD positivo
19	++++	++++	RhD positivo
20	++++	++++	RhD positivo
21	++++	++++	RhD positivo
22	++++	++++	RhD positivo
23	++++	++++	RhD positivo
24	++++	++++	RhD positivo
25	++	+	RhD positivo
26	++++	++++	RhD positivo
27	++++	++++	RhD positivo
28	++++	++++	RhD positivo
29	++++	++++	RhD positivo
30	++++	++++	RhD positivo
31	+	+	RhD positivo
32	++++	++++	RhD positivo
33	++++	++++	RhD positivo
34	++++	++++	RhD positivo
35	++++	++++	RhD positivo

36	++++	++++	RhD positivo
37	++++	++++	RhD positivo
38	++	+	RhD positivo
39	++++	++++	RhD positivo
40	++++	++++	RhD positivo
41	++++	++++	RhD positivo
42	++++	++++	RhD positivo
43	++++	++++	RhD positivo
44	+	+	RhD positivo
45	++++	++++	RhD positivo
46	++++	++++	RhD positivo
47	++++	++++	RhD positivo
48	+	+	RhD positivo
49	++++	++++	RhD positivo
50	++++	++++	RhD positivo
51	++++	++++	RhD positivo
52	+	+	RhD positivo
53	++++	++++	RhD positivo
54	++++	++++	RhD positivo

Tabla 7. Formato para valoración de antígenos RhD.

Variantes antigénicas D.

MUESTRAS	ANTI-D1	ANTI-D2	ANTI-D3	ANTI-D4	ANTI-D5	ANTI-D6
1	0	0	0	+	0	+
2	0	0	0	+	+	+
3	0	0	0	+	+	0
4	0	0	0	0	0	+
5	0	0	0	0	+	+
6	0	0	0	+	+	0

Tabla 8. Formato para evaluación de variantes D

Valoración del coombs Directo e Indirecto.

MUESTRAS	PAD	PAI	INTERPRETACIÓN
1	-	+	Positivo
2	-	+	Positivo
3	-	+	Positivo
4	-	+	Positivo
5	-	+	Positivo
6	-	+	Positivo

Tabla 7. Formato para valoración de coombs.

Ensayos de Compatibilidad 1.

MUESTRAS	RHD+ CON RHD PARCIAL	RhD- CON RHD PARCIAL
1	Incompatible	Compatible
2	Incompatible	Compatible
3	Incompatible	Compatible
4	Incompatible	Compatible
5	Incompatible	Compatible
6	Incompatible	Compatible

Tabla 8. Formato compatibilidad 1.

Ensayos de Compatibilidad 2.

MUESTRAS	GD+SR FASE SALINA	GD+SR FASE LISS	GD+SR FASE COOMBS
1	Incompatible	Incompatible	Incompatible
2	Incompatible	Incompatible	Incompatible
3	Incompatible	Incompatible	Incompatible
4	Incompatible	Incompatible	Incompatible
5	Incompatible	Incompatible	Incompatible
6	Incompatible	Incompatible	Incompatible

Tabla 11. Formato compatibilidad 2

Ensayos de compatibilidad 3.

MUESTRAS	GD+SR FASE SALINA	GD+SR FASE LISS	GD+SR FASE COOMBS
1	Incompatible	Incompatible	Incompatible
2	Incompatible	Incompatible	Incompatible
3	Incompatible	Incompatible	Incompatible
4	Incompatible	Incompatible	Incompatible
5	Incompatible	Incompatible	Incompatible
6	Incompatible	Incompatible	Incompatible

Tabla 12. Formato compatibilidad 3.



Figura 15. Almacenamiento de paquetes globulares



Figura 16 Almacenamiento de plasma



Figura 17. Set de tipificación



Figura 18. Panel de células reactivas



Figura 19: Materiales para pruebas de Coombs



Figura 20: Colocando el reactivo antiglobulina humana



Figura 21: Muestra de donante de sangre para análisis



Figura 22: Lavado de células con suero fisiológico al 0,9%.



Figura 23: Colocar células reactivas



Figura 24.Extracción de sangre del donante



Figura 25: Colocar suero para análisis