



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DE TÍTULO DE
LICENCIADO EN CIENCIAS DE LA SALUD LABORATORIO CLÍNICO E
HISTOPATOLÓGICO**

TEMA:

**“PREVENCIÓN DE REACCIONES TRANSFUSIONALES AL IDENTIFICAR
ANTICUERPOS IRREGULARES MEDIANTE LA PRUEBA DE COOMBS
INDIRECTO Y EL PROCESO DE DESCARTE EN MUESTRAS DE SANGRE
OBTENIDAS EN EL SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DE
RIOBAMBA, DURANTE EL PERIODO DE JUNIO – NOVIEMBRE 2015”**

AUTOR

STALIN GUALPA

TUTOR

Lic. FERNANDO JARAMILLO

RIOBAMBA – ECUADOR

2016



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO

PROYECTO DE INVESTIGACION PREVIO A LA OBTENCIÓN DE TÍTULO DE LICENCIADO EN CIENCIAS DE LA SALUD LABORATORIO CLÍNICO E HISTOPATOLÓGICO

TEMA:

“PREVENCIÓN DE REACCIONES TRANSFUSIONALES AL IDENTIFICAR ANTICUERPOS IRREGULARES MEDIANTE LA PRUEBA DE COOMBS INDIRECTO Y EL PROCESO DE DESCARTE EN MUESTRAS DE SANGRE OBTENIDAS EN EL SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DE RIOBAMBA, DURANTE EL PERIODO DE JUNIO – NOVIEMBRE 2015”

PRESENTADO Y APROBADO ANTE EL TRIBUNAL CONFORMADO POR:

MsC. Paúl Parra

Miembro

Lic. Elena Brito

Presidente

Lic. Fernando Jaramillo

Tutor

RIOBAMBA - ECUADOR

ACEPTACIÓN DEL TUTOR

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

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'F. Jaramillo G.', is positioned above a horizontal dashed line.

Lic. Fernando Jaramillo G.

TUTOR

DERECHOS DE AUTORÍA

Yo **STALIN ANDRES GUALPA TANDAZO**, soy responsable de las ideas, criterios, pensamientos y resultados expuestos en el presente trabajo investigativo y los derechos de autoría pertenecen a la **UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO**



Stalin Andres Gualpa Tandazo

C.I. 2100253950

DEDICATORIA

A mí amada esposa, por estar a mi lado en el cumplimiento de esta meta, ha sido el pilar principal para la culminación de la misma, con su comprensión, apoyo constante y su amor incondicional siempre motivándome para seguir adelante.

A mi hijo Steban Andrés que es mi inspiración y por quien cada día tiene sentido, quien con una sonrisa llena de amor y alegría toda mi vida.

A mis extraordinarios padres, María y David por su noble dedicación y amor por ser mis amigos y consejeros, siempre impulsándome y apoyándome en los momentos más difíciles de mi carrera.

AGRADECIMIENTO

Me gustaría agradecer a ti, mi Dios por su infinita bondad, por bendecirme y permitirme llegar hasta donde estoy.

A la Universidad Nacional de Chimborazo, a sus autoridades y profesores, por abrir sus puertas y transmitir sus conocimientos para mi formación profesional y en especial a mi tutor, Lic. Fernando Jaramillo quien con sus conocimientos, su experiencia su paciencia han logrado en mi que pueda terminar este trabajo investigativo con éxito.

A mí amada esposa, quien ha estado a mi lado dándome amor, confianza y sobre todo su comprensión y apoyo incondicional.

RESUMEN

La realización de las pruebas de coombs o llamadas antiglobulínicas, son pruebas que se aplican en la rutina de bancos de sangre o servicios transfusionales, como lo es el servicio de Medicina Transfusional del Hospital General Docente de la ciudad de Riobamba, la importancia radica en que esta prueba está destinada a la identificación de anticuerpos, es un proceso de vital importancia que se somete a toda muestra de sangre procedentes de pacientes que requieren de la administración de sangre o sus derivados.

Esto permite asegurar invitro e in vivo al proceso transfusional, para descartar reacciones adversas posibles o evidentes que se expresen durante o después de la transfusión. Este trabajo investigativo se sustenta con la formulación del problema, importancia y justificación, desarrollo del marco teórico, aplicación del método de investigación deductiva e inductiva, empleo de los principios de la investigación científica la cual está sujeta a comprobaciones, tiene como objetivo prevenir las reacciones adversas al identificar anticuerpos irregulares mediante la técnica de Coombs indirecto a través del proceso de descarte que nos permite validar el ensayo para interpretar las características en las que se desenvuelve la clínica del paciente, las exposiciones a estímulos por antígenos propios o extraños, posibles gestaciones o antecedentes transfusionales, en fin a una serie de condiciones en las que una persona pueda desarrollar o adquirir uno o más anticuerpos. De la hipótesis planteada se comprueba de manera afirmativa llegando a la conclusión que al emplear el proceso de descarte permite validar el ensayo para interpretar las características en las que se desenvuelve la clínica del paciente, las exposiciones a estímulos por antígenos propios o extraños, posibles gestaciones o antecedentes transfusionales.

ABSTRACT

The testing of coombs or antiglobulin calls, tests are applied in the routine of blood banks of transformation service of transfusion medicine department of the Public Hospital of the city of Riobamba, the importance lies in the fact that this test is aimed at the identification of antibodies, is an important process that is subjected to any sample of blood from patients requiring the administration of blood or its derivatives. This helps to ensure the in vitro and in vivo transfusion. This investigative work is based on the formulation, importance and justification of the problem, development of the theoretical framework, application of the method of inductive and deductive research, use of the principles of scientific research which is subject to checks, aims to prevent adverse reactions to identify irregular antibodies using the technique of indirect coombs through the discard process that allows us to validate the test to interpret the features that unfolds the clinical manifestations of the patients, the exposures to stimuli by proper and strange antigens, possible pregnancies or transfusion history, at the end to a series of conditions in which a person can develop or acquire one or more antibodies. The hypothesis is checked in an affirmative manner coming to the conclusion that by employing discarding process allows you to validate the test o interpret the features that unfolds the clinical manifestations of the patient, the exposure to stimuli by proper and strange antigens, possible pregnancies or transfusion history.



SIGNATURE

Reviewed by Solis, Hugo
Language Center Teacher



ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CONTENIDO	1
INTRODUCCIÓN	6
CAPÍTULO I	8
1. Problematización.....	8
1.1 Planteamiento del Problema.....	8
1.2 Formulación del problema.	9
1.3Objetivos.....	9
1.3.1 Objetivo General.....	9
1.3.2 Objetivos Específicos.....	9
1.4Justificación e Importancia.....	9
CAPÍTULO II	11
2. Marco Teórico.....	11
2.1. Posicionamiento Personal.	11
2.2 Fundamentación teórica.	11
2.2.1 Antígenos	11
2.2.1.2 Estructura	13
2.2.1.3 Clasificación	14
2.2.2. Antígenos del Sistema ABO	16
2.2.3 Anticuerpos	19
2.2.3.1 Definición.	19
2.2.3.2 Estructura.	20
2.2.3.3. Clasificación.	21
2.2.3.4. Anticuerpos Naturales.....	24

2.2.3.5 Anticuerpos Irregulares.....	28
2.2.4 Pruebas de Coombs.....	32
2.2.4.1 Características.....	33
2.2.4.2 Función.....	33
2.2.4.3 Coombs Directo.....	34
2.2.4.4 Coombs Indirecto.....	41
2.2.4.5 Fundamento del Descarte.....	51
2.2.4.6 Técnica de pantallas I – II Y III.....	52
2.2.4.7 Prueba de Pantalla y Multipanel.....	54
2.2.5 Pruebas de Compatibilidad.....	56
2.2.5.1. Prueba Cruzada Mayor.....	59
2.2.5.2. Prueba Cruzada Menor.....	63
2.3 Definición de Términos Básicos.....	67
3. Anemia hemolítica.- es una afección en la cual hay un número insuficiente de glóbulos rojos en la sangre, debido a su destrucción prematura.....	67
2.4. Hipótesis y Variables.....	73
2.4.1 Hipótesis.....	73
2.4.2 Variables.....	73
variable independiente.....	73
2.5 Operacionalización de Variables.....	74
CAPÍTULO III.....	75
3 Marco Metodológico.....	75
3.1 Método Científico.....	75
3.2. Tipo de Investigación.....	75
3.2.1 Diseño de Investigación.....	76
3.3 Población y Muestra.....	76

3.3.1 Población.....	76
3.3.2 Muestra	76
3.4 Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos	77
3.4.1. Técnicas:	77
3.4.2. Instrumentos:.....	77
3.5 Análisis e Interpretación de resultados	78
3.5.1 Ensayo de Coombs indirecto periodo junio- noviembre 2015.....	78
3.5.2 Ensayos, positivos de Coombs indirecto.....	79
3.5.4 Tipos de anticuerpos específicos identificados con el coombs indirecto.....	81
CAPÍTULO IV	83
4. Conclusiones y Recomendaciones.	83
4.1 Conclusiones.	83
4.2 Recomendaciones	83
3.3 Bibliografía	85

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Antígeno	12
Figura 2 Antígeno Anticuerpo	13
Figura 3 Los Grupos Sanguíneos	17
Figura 4 Estructura de los anticuerpos	20
Figura 5 Clasificación de las inmunoglobulinas	22
Figura 6 Moléculas de IgG.....	23
Figura 7 Antígenos y anticuerpos	25
Figura 8 Anticuerpos Irregulares	28

Figura 9 Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido	30
Figura 10 Coombs Directo.....	34
Figura 11 Intensidad de la Reacción	38
Figura 12 Coombs Indirecto	41
Figura 13 Interpretación Esquemática de la Técnica de la Prueba Indirecta de Coombs	42
Figura 14 Pantallas Positivas	54
Figura 15 Multipanel de Células.....	54
Figura 16 Grupos Sanguíneos	56
Figura 17 Células de control coombs comercial.....	62
Figura 18 Pruebas de Compatibilidad	63
Gráfico 17 Representación grafica de la tabla 8	78
Gráfico 20 Representación grafica de la tabla 11	80

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Esquema Sistema ABO.....	28
Tabla 2 Grado de Aglutinación de los Hematíes en la prueba de la Antiglobulina Directa e Indirecta.....	39
Tabla 3 Anticuerpos con significado clínico.....	39
Tabla 4 Variables que afectan la sensibilidad de la prueba de la antiglobulina directa en la fase de sensibilización.....	47
Tabla 5 Variables que afectan la sensibilidad de la prueba de la antiglobulina indirecta en la fase de sensibilización	48
Tabla 6 Variables que afectan la sensibilidad de la prueba de la antiglobulina indirecta en la fase de antiglobulina y lectura.....	49

Tabla 7 Variables que afectan la sensibilidad de la prueba de la antiglobulina indirecta en la fase de antiglobulina y lectura.....	50
Tabla 8 Estadística de Ensayos de Coombs Directo	78
Tabla 9 Ensayos, positivos de coombs indirecto	79
Tabla 10 Tipos de anticuerpos específicos identificados con el coombs indirecto	81
Tabla 11 Ensayos positivos de coombs indirectos con resultados de de anticuerpos específicos e indefinidos	80

INTRODUCCIÓN

La identificación de anticuerpos, es un proceso de vital importancia que se somete a toda muestra de sangre procedente de pacientes que requieren de la administración de sangre y sus derivados.

Esto permite asegurar *invitro* e *in vivo* al proceso transfusional, para descartar reacciones adversas posibles o evidentes que se expresen durante o después de la transfusión.

Varias técnicas existen para la identificación de los anticuerpos llamados irregulares, algunos de estos procedimientos siguen en vigencia y otros han sido modificados sus procesos con la finalidad de asegurar una mejor calidad de resultados.

De igual manera existen condiciones en la que se someten a validarse la condición del proceso utilizado, el tipo de muestra de sangre recolectado para su estudio, y algunas condiciones relacionadas a la calidad de la muestra para asegurar la efectividad de la prueba.

Es usual encontrar un solo anticuerpo en el reporte o a su vez es común reportar un solo anticuerpo, pero hay un porcentaje considerable de pacientes en los que se ha encontrado más de un anticuerpo y su interpretación se limita a una resolución específica del anticuerpo identificado.

El descarte es un proceso que permite validar el ensayo para interpretar las características en las que se desenvuelve la clínica del paciente, las exposiciones a estímulos por antígenos propios o extraños, posibles gestaciones o antecedentes transfusionales, en fin a una serie de condiciones en las que una persona pueda desarrollar o adquirir uno o más anticuerpos.

Este proceso es útil cuando se parte para la identificación de anticuerpos desde la realización de las pantallas de células y se confirma con la realización del panel o conocido también multipanel de células reactivas.

Es importante considerar la frecuencia antigénica en la población para relacionarlo con el porcentaje de anticuerpos a los que se puede enfrentar o encontrarse a causa de transfusiones sanguíneas o sus derivados.

El pasar por alto la identificación de anticuerpos irregulares genera altos riesgos de reacciones transfusionales sobre todo hemolíticas, el cual involucra complicaciones severas e irreversibles ocasionando en muchos de los casos la muerte.

Es por ello que el acto de practicar una transfusión de sangre o de sus derivados involucra un riesgo sanitario alto, la prescripción de la transfusión debe darse únicamente en los casos que amerita o justifica, de igual manera el cálculo de la dosis o del tipo de hemoderivados a transfundirse debe ser considerado en base a la clínica de la enfermedad y no por realizar un acto de rutina.

La seguridad de la transfusión también abarca las propiedades terapéuticas y la minimización del riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas. En cuanto a las propiedades terapéuticas, ha de tenerse en cuenta que la sangre y los componentes lábiles obtenidos de ella son productos biológicos que reflejan la variabilidad interindividual de los donantes de sangre. Así, aunque el donante pasa por un escrutinio que lo descarta temporalmente si está anémico, resulta imposible garantizar que todas las unidades de concentrado de hematíes tengan el mismo contenido de hemoglobina; y ocurre lo mismo, por ejemplo, con las plaquetas o con el contenido de fibrinógeno en el plasma. No obstante, la normativa y los estándares de calidad exigen que los componentes sanguíneos destinados a transfusión cumplan con unos dinteles mínimos en cuanto a la cantidad de producto terapéutico que contienen y obligan a los bancos de sangre a comprobar que efectivamente sea así.

CAPÍTULO I

1. Problematización.

1.1 Planteamiento del Problema

A pesar de que se habla de seguridad en las transfusiones, no se descarta la posibilidad de generar efectos adversos a causa de las transfusiones porque otro campo de estudio, es el paciente que lo recibe.

Esto se relaciona que en el organismo del paciente se encuentran un historial antigénico y de anticuerpos a efectos de una vida expuesta a este tipo de estímulos que van desde la generación de enfermedades, exposiciones a fármacos, en mujeres de edad fértil, los embarazos, abortos, las mismas transfusiones como antecedentes.

A respuesta del organismo por lo descrito anteriormente, este responde generando la respuesta inmune y titulando anticuerpos, término utilizado en los laboratorios para identificar a los mismos mediante diversos ensayos,

En algunas ocasiones pacientes reciben transfusiones emergentes porque así se presenta esta necesidad, la realización de pruebas llamadas de compatibilidad no se las práctica debido al tiempo en que se requiere para esta acción versus el tiempo en la que el paciente requiere la transfusión, este es un claro ejemplo en las que el paciente puede generar la producción de anticuerpos irregulares relacionados por la transfusión de sangre, este mismo paciente puede requerir de nuevas transfusiones lo que evidencie una clara reacción por la carga antigénica que recibe por cada transfusión de sangre.

El estudio e identificación de anticuerpos es clave fundamental para cuidar serológicamente al donante o receptor de sangre, por ello la importancia de generar resultados de alta precisión y confiabilidad.

1.2 Formulación del problema.

¿ Se puede prevenir reacciones transfusionales al identificar anticuerpos irregulares mediante la prueba de coombs indirecto y el proceso de descarte en muestras de sangre obtenidas en el servicio de medicina Transfusional de Riobamba Durante el periodo de Junio – Noviembre 2015?

1.3 Objetivos.

1.3.1 Objetivo General.

Prevenir las reacciones transfusionales al identificar anticuerpos irregulares mediante la prueba de Coombs indirecto y el proceso de descarte en muestras de sangre obtenidas en el servicio de Medicina Transfusional de Riobamba durante el periodo de Junio – Noviembre 2015.

1.3.2 Objetivos Específicos.

- Aplicar la técnica del coombs indirecto mediante las pruebas de pantallas para apreciar invitro la presencia o ausencia de anticuerpos irregulares.
- Confirmar la presencia de anticuerpos irregulares evaluados en las pantallas con el multipanel o panel de células.
- Aplicar el proceso de descarte para identificar la presencia de más de un anticuerpo en las muestras de sangre en estudio.

1.4 Justificación e Importancia.

El proceso de la transfusión comprende las tareas que van desde la prescripción por parte del médico responsable del paciente hasta que este último recibe el componente

sanguíneo indicado, aunque la seguridad de este proceso suele asociarse con la realización de las pruebas de laboratorio de compatibilidad transfusional, lo cierto es que los principales puntos críticos quedan fuera del laboratorio de compatibilidad.

El proceso de la transfusión posee una serie de características que lo hacen particularmente vulnerable a la comisión de errores, así, se producen múltiples transcripciones de datos críticos, como la identificación del paciente, que pasa de la mente del médico al impreso de solicitud de transfusión; y de éste a las hojas de trabajo del laboratorio de compatibilidad y a los registros del servicio de transfusiones; y de estos últimos a la bolsa de sangre que vuelve a la cabecera del paciente para ser transfundida. No es raro, además, que coexistan múltiples códigos diferentes como: el número de historia clínica, el de admisión, el asignado a la muestra de sangre del paciente y el que emplee el servicio de transfusión a las bolsas de sangre o componentes que van a ser administrados.

Ha de tenerse en cuenta, además, que el proceso de la transfusión está sujeto a las vicisitudes de la práctica clínica, donde las situaciones de extrema urgencia, la atención dividida entre múltiples tareas perentorias, la incapacidad de muchos pacientes para identificarse por sí mismos y la coexistencia de varias transfusiones en una misma unidad asistencial contribuyen a la comisión de errores, por muy bien regulado y protocolizado que esté el proceso.

Cuando en el estudio de anticuerpos irregulares se presenta subjetivamente más de uno, la cartilla de referencia para guía e interpretación de resultados conlleva a una confusión de los mismos, es por ello que la experiencia de los técnicos o personal de servicios transfusionales direccionan a realizar una serie de eventos para garantizar y especificar el resultados, debido a que este ensayo orienta evitar complicaciones transfusionales que comprometan la vida del paciente transfundido independiente de edad, sexo o patología.

CAPÍTULO II

2. Marco Teórico.

2.1. Posicionamiento Personal.

La teoría del conocimiento o creencia, es lo que conlleva al trabajo de esta investigación 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 por lo tanto todo ensayo de laboratorio relaciona, el sustento científico con todos los aportes prácticos.

La filosofía que se aplica en este trabajo investigativo es el pragmatismo se caracteriza por las consecuencia de las cosas oponiéndose a la visión que de los conceptos humanos y el intelecto representan el significado real de las cosas, en el cual se cree que el hombre es incapaz de captar la esencia íntima de las cosas, que la razón humana es incapaz de resolver los enigmas metafísicos y desvía entonces su atención a los resultados prácticos de las ideas Punam Hilary.

2.2 Fundamentación teórica.

2.2.1 Antígenos

2.2.1.1 Definición.

Un antígeno es una molécula capaz de producir una respuesta del sistema inmune adaptativo mediante la activación de linfocitos. Esta definición amplía el concepto de antígeno más allá del concepto clásico que definía antígeno como la sustancia que desencadena la producción de anticuerpos.

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

La mayoría de los antígenos son de naturaleza peptídica, aunque también pueden actuar como antígenos moléculas de distintos tipos como lipopolisacáridos e incluso ADN. Los antígenos pueden ser moléculas enteras pero generalmente son el resultado del procesamiento por células presentadoras de antígenos. A las regiones específicas de los antígenos que son reconocidas por los anticuerpos o por los receptores de células T (TCRs) se les conoce como epítomos o determinantes antigénicos (LEON,2002)

Figura 1 Antígeno



Fuente: <http://es.slideshare.net/maribela2/antigenos>

Los anticuerpos reconocen epítomos conformacionales que deben ser accesibles en la proteína original. Los TCR reconocen la estructura que adopta un antígeno, ya procesado, dentro de la binding-groove de las moléculas MHC. En el proceso de presentación antigénica las células presentadoras de antígeno procesan y presentan tanto proteínas propias como extrañas a las células T. A los péptidos propios que son reconocidos como extraños por el sistema inmune se les llama autoantígenos.

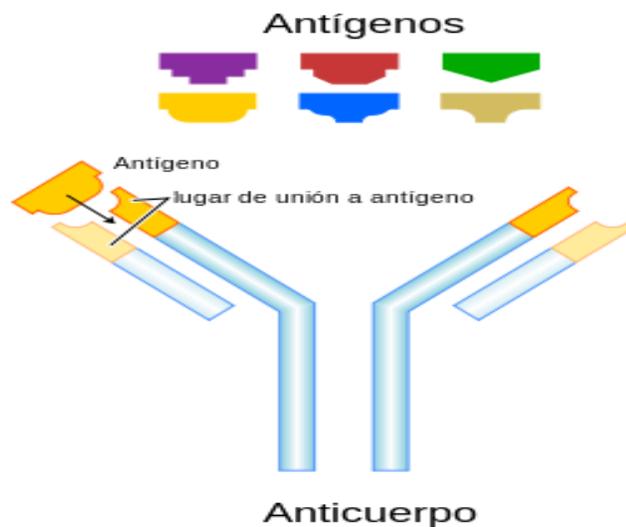
La respuesta descontrolada frente a autoantígenos puede ocasionar procesos patológicos. (ABBAS, 2012)

2.2.1.2 Estructura

Algunas moléculas pequeñas, pueden unirse específicamente a los anticuerpos pero no activan a las células B o T (son antígenos, pero no inmunógenos). Sin embargo, moléculas con bajo peso molecular, por lo general inferior a 4,000 Da, llamadas haptenos, pueden unirse covalentemente con una proteína propia de mayor peso (acarreadora o transportadora) y formar un inmunógeno.

Este mecanismo está presente cuando algunos fármacos, originalmente carentes de inmunogenicidad, ingresan al organismo y la adquieren al unirse a proteínas autólogas. Algo similar sucede en el mecanismo involucrado en la dermatitis por contacto: Moléculas como el pentadecatecol de la hiedra venenosa o iones metálicos como el cromo o el níquel presentes en aretes u otros accesorios, son haptenos, lo que les permite penetrar fácilmente la piel; estos haptenos se unen con proteínas propias y se crean complejos hapteno-acarreador, que funcionan como inmunógenos. Los inmunógenos son capturados por las células de Langerhans y presentados a células T en los ganglios más cercanos, lo que origina, en individuos hipersensibles, una potente respuesta que se manifiesta como una reacción severa en piel.(ROJAS,2008)

Figura 2 Antígeno Anticuerpo



Fuente: [http:// es.wikipedia.org](http://es.wikipedia.org)

Características del Antígeno

Para poder verificar el análisis de un antígeno depende de las características intrínsecas, de este así como las condiciones en que se administra el huésped y la capacidad que este posea para reaccionar y estimular la producción de anticuerpos para que una molécula sea considerada un potente inmunógeno se deben tener en cuenta los siguientes factores:

- El tamaño molecular: este debe ser superior a 10.000 Daltons. Sin embargo existen muchos elementos que actúan como inmunógenos cuando son acoplados a sustancias transportadoras y son introducidos al organismo como potenciadores de la respuesta inmune (adyuvante)
- Los grupos químicos activos: las proteínas con radicales ácidos o aromáticos son inmunógenos potentes. Asimismo, los polisacáridos presentan una alta antigenicidad debido a su conformación con subunidades repetidas de azúcares, las que confieren una estructura rígida favorable a la respuesta humoral. (FIORENTINO, 1995)

2.2.1.3 Clasificación

La clasificación puede ser de diferentes formas en la siguiente información presento una lista de los distintos criterios que se ha utilizado para clasificarlos

Origen de los Antígenos

De acuerdo con el origen de los antígenos pueden ser exógenos o endógenos.

Los exógenos son moléculas extrañas al organismo cuyo sistema inmunitario puede reconocer. Representan la principal fuente de inmunógenos para cualquier individuo sano, estos antígenos son los que el individuo reconoce como propios contra los cuales puede o no iniciar una respuesta.

En el caso que los antígenos endógenos se comportan como inmunógenos, ellos estimulan una respuesta inmunitaria, la cual puede ser benéfica (como en el caso de las

inmunoglobulinas o anticuerpos) como cuando se producen los anticuerpos anti DNA o Anti-tiroides que provocan las enfermedades por autoinmunidad, en otros casos como en las personas de edad avanzada la producción de anticuerpos se eleva significativamente sin que, hasta ahora se les haya asignado un significado biológico completamente claro.

Naturaleza Química

Según la naturaleza química, los antígenos pueden ser clasificados: como proteínas, carbohidratos, lípidos o ácidos nucleicos. La naturaleza de los antígenos es importante para su reconocimiento por los linfocitos, ya que mientras los receptores de las células B pueden reconocer los determinantes de todas las moléculas, los receptores de los linfocitos T en cambio solo reconocen los determinantes de las proteínas.

Forma de obtención

Es otra forma de clasificación de los antígenos según la forma de obtenerlos. Desde este punto de vista, ellos pueden ser distinguidos como naturales o artificiales o sintéticos.

Conformación

Desacuerdo con la conformación estérica, los antígenos también han sido clasificados en conformacionales o secuenciales. Las secuencias de aminoácidos de estos últimos pueden ser continuas o discontinuas.

El receptor de los linfocitos t no reconoce la conformación de los epitopes de las proteínas sino la secuencia continua de los aminoácidos que los conforman expuestos como oligopeptido unido a una molécula de histocompatibilidad.

Distribución

Estos antígenos poseen una distribución variable, en la naturaleza, lo cual ha servido para proponer otras clasificaciones diferentes así por ejemplo algunos han sido considerados antígenos específicos de cierto órganos y/o tejidos mientras que otros están registrados a una sola especie animal y, por esta razón se conocen como específicos de especie. La mayoría de los antígenos asociados a las neoplasias malignas no han

resultados específicos de los tumores, sino mas bien, de las células en donde se origina la neoplasia. (GARCIA, 1994)

Conjunto de Antígenos de Diferenciación

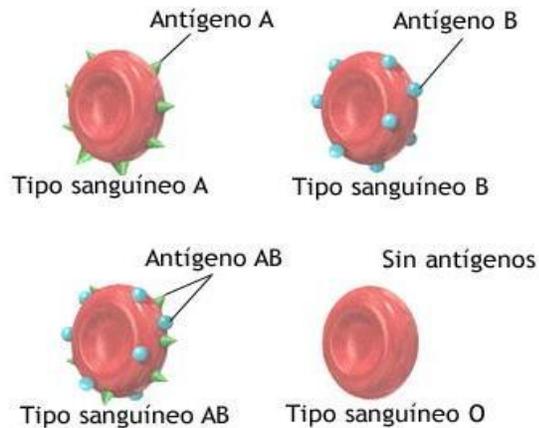
Se llaman antígenos de Diferenciación (antígeno CD) a un conjunto de glicoproteínas que aparecen paulatinamente sobre la membrana de las células sanguíneas y endoteliales a medida que avanza su maduración o se activa algunas de sus funciones. Los antígenos CD reciben ese nombre porque su producción y su expresión en la membrana varían según el grado de diferenciación que alcanzado cada célula. La identificación de los antígenos permite clasificar todas las células que derivan del tejido hematopoyético, pero principalmente a las células del sistema inmunitario según la etapa de maduración en que se encuentra, el linaje al que pertenecen o la condición fisiológica (reposo o actividad) que tienen en un momento dado. La mayoría de los antígenos son receptores de membrana, pero en el laboratorio clínico tiene significado de " marcadores" que permiten identificar y o clasificar las células endoteliales y las que circulan en la sangre entre ellas los linfocitos del sistema inmunitario.

A medida que se ha ido descubriendo los antígenos CD han sido purificados caracterizados y utilizados para obtener anticuerpos monoclonales, que están dirigidos contra sus principales antígenicos. Hasta ahora se conoce aproximadamente 140 antígenos CD. (GARCIA, 1994)

2.2.2. Antígenos del Sistema ABO

Los antígenos A y B fueron originalmente identificados en los glóbulos rojos, sin embargo más adelante también se encontraron en otros tipos de células y secreciones. Por ejemplo, las células endoteliales que forman las paredes de los capilares expresan estos antígenos, dependiendo del grupo sanguíneo.

Figura 3 Los Grupos Sanguíneos



Fuente: <http://medicinapreventiva.com.ve>

Por lo tanto, el sistema ABO de grupo sanguíneo es importante no sólo para transfusión de sangre, sino también para el trasplante de células, tejidos y órganos.

Sangre, pelos y líquido seminal son elementos importantes como pruebas en la escena de un crimen, los antígenos A y B no se limitan únicamente a los seres humanos, tanto estos mismos antígenos como otros similares se han encontrado en diversas especies de organismos. Por ejemplo, los chimpancés expresan los grupos sanguíneos A y O, mientras que los gorilas expresan el grupo sanguíneo B. Además de los primates, muchos mamíferos y vertebrados, plantas y ciertos microorganismos han demostrado expresar antígenos iguales o similares. La evolución del sistema ABO es, por tanto, de interés científico.

La expresión de los antígenos A y B no es siempre constante sino que fluctúa durante el desarrollo, la diferenciación e incluso durante la carcinogénesis de las células. Es otra importante cuestión por resolver por qué están presentes de forma "natural" los anticuerpos contra los antígenos A y B en el plasma de individuos que no expresan esos antígenos.

Los antígenos ABO están presentes en todos los tejidos excepto el sistema nervioso central, de donde se deduce la importancia de dicho sistema en transfusión de eritrocitos, leucocitos, plaquetas y trasplantes de tejidos, también se encuentran presentes en las secreciones, como polisacáridos solubles.

Las personas con sangre del tipo A tienen glóbulos rojos que expresan antígenos de tipo A en su superficie

Las personas con sangre del tipo B tienen la combinación contraria, glóbulos rojos con antígenos de tipo B en su superficie.

Los individuos con sangre del tipo O ó 0 (cero) no expresan ninguno de los dos antígenos (A o B) en la superficie de sus glóbulos rojos pero tienen anticuerpos contra ambos tipos, mientras que las personas con tipo AB expresan ambos antígenos en su superficie y no fabrican ninguno de los dos anticuerpos.

Los grupos sanguíneos están definidos por antígenos. Estos, son la cadena de hidrocarburos unidas a caramida que componen las glicoproteínas de la membrana de algunos eritrocitos en la sangre

Antígenos ABO Adquiridos

En algunas situaciones, ejemplo: carcinoma, infecciones gastrointestinales, etc. En personas grupo A, o O pueden ocurrir adquisición de "antígeno B", el que desaparece al desaparecer el proceso patológico. Esta anomalía puede crear problemas en el tipaje ABO.

Antígenos ABO Débiles.

Debilidad antigénica de los grupos ABO pueden observarse en el recién nacido, pacientes con leucemia, personas de edad avanzada

Antígeno H

El antígeno H se encuentra en la membrana de los eritrocitos, excepto en las personas de fenotipo O_h (fenotipo Bombay). Como H es un precursor de A y B, las personas de los grupos sanguíneos A, B, y AB tienen menos H que las personas O. (ROGEIRO,1997)

2.2.3 Anticuerpos

2.2.3.1 Definición.

El sistema inmunológico tiene como función principal proteger al organismo de agentes extraños, está integrado por diferentes órganos, tejidos, células y moléculas que funcionan coordinadamente. Sus componentes más importantes son: la piel y las mucosas, los órganos linfoides como las amígdalas, las adenoides, el bazo, el timo, los ganglios linfáticos; numerosas células leucocitarias (linfocitos) y sus productos de secreción como citocinas, quimiocinas e inmunoglobulinas entre otros. Este sistema tiene tres propiedades esenciales: primera, tiene la habilidad de reconocer sustancias extrañas denominadas antígenas principalmente provenientes de patógenos, tales como bacterias, virus, hongos.

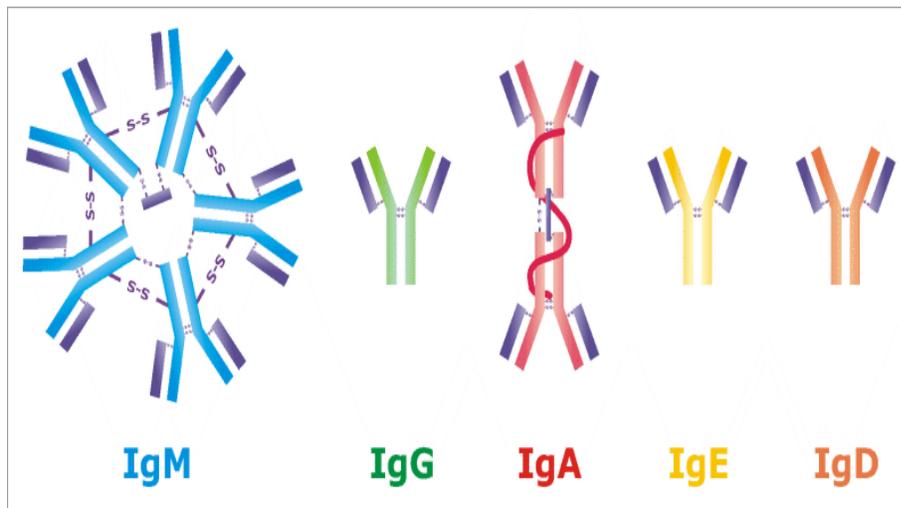
Los anticuerpos surgieron en los organismos en respuesta a las necesidades imperantes de neutralizar y destruir los embates de agentes externos nocivos para los mismos. Los anticuerpos son macromoléculas que por sus propiedades de especificidad y afinidad a sus antígenos, han sido utilizados para toda una gama de estudios en la medicina, su manipulación fuera de los sistemas vivientes ha permitido su aplicación en la terapéutica y el diagnóstico oportuno de varias enfermedades. El presente trabajo muestra una sinopsis de las propiedades bioquímicas de los anticuerpos y de las estrategias más recientes que han permitido la manipulación de estas moléculas, con la finalidad de mejorar su afinidad y avidez, así como en los métodos de producción para incrementar su potencial de aplicación en la investigación biológica y médica.

pesadas presentan un dominio variable y tres constantes, VH, CH1, CH2 y CH3, respectivamente. Las regiones variables y el primer dominio constante de las cadenas pesadas (VH y CH1) se asocian con las cadenas livianas (VL y CL) para formar dos sitios idénticos de unión al antígeno, los fragmentos Fab4-6, cada uno de los cuales contiene las Regiones de Determinación de Complementariedad o simplemente CDR (del inglés complementarity determining región), tres aportados por la cadena ligera y otro tanto por la cadena pesada, las cuales interaccionan directamente con un antígeno específico, siendo los CDR3 los que interaccionan más estrechamente con éste. Por otro lado, las regiones CH2 y CH3 de las cadenas pesadas forman la fracción cristalizable o fragmento Fc, región que cumple con funciones efectoras, tales como transporte placentario, potenciación de la fagocitosis (opsonización) o citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos. En los anticuerpos aparecen, además de las cuatro cadenas polipeptídicas básicas, un componente glicosídico en el dominio. (VILLENNA, 1995)

2.2.3.3. Clasificación.

Las inmunoglobulinas con este nombre se designan a un grupo amplio de glicoproteínas, algunas de las inmunoglobulinas. Todas ellas presentan el mismo patrón estructural y poseen características físico química muy similares se encuentran en la superficie de determinados tipos celulares, actuando a modo de receptores de membrana en el (linfocito B) otras (anticuerpos) aparecen de forma soluble en la sangre y linfa presentes en el suero y fluidos tisulares de todos los mamíferos son las moléculas mediadoras de la respuesta inmune humoral se dividen en cinco clases IgA, IgD, IgE, IgG, IgM se distinguen sobre la base de sus diferentes estructuras de la parte constante de la molécula y desempeñan funciones efectoras distintas, entre estas funciones esta la activación del complemento (IgG- IgM), la opsonización de partículas antigénicas (IgG), la citotoxicidad celular (IgG- IgA- IgE)

Figura 5 Clasificación de las inmunoglobulinas



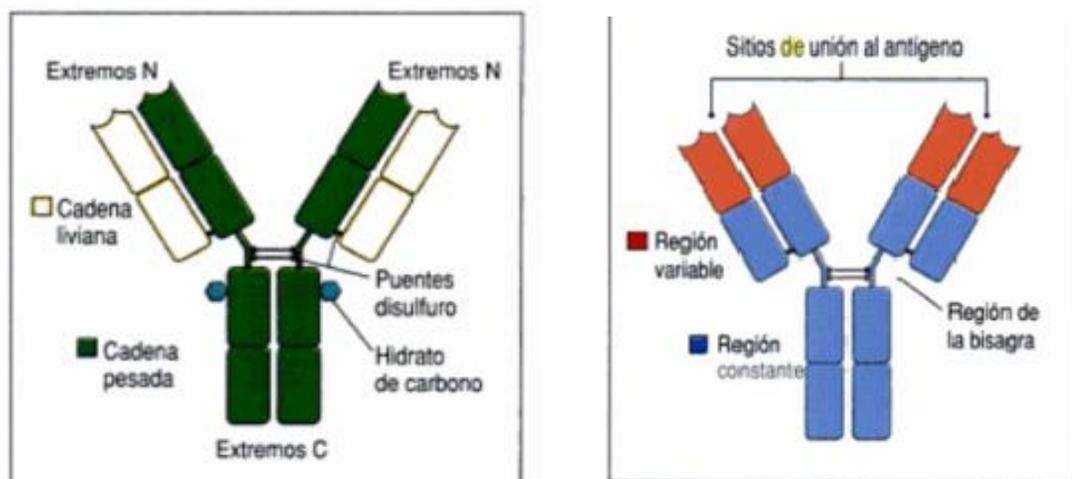
Fuente: <http://es.slideshare.net/maribela2/anticuerpos>

IgM: De vida media muy corta se sintetizan durante la respuesta primaria a infecciones, está formada por cinco unidades básicas de inmunoglobulina unidas entre sí por una pieza J y se encuentra presente en el plasma. Tiene diez sitios de unión con antígeno y es secretada principalmente en respuestas humorales primarias timodependientes y en respuestas timoindpendientes. Es de baja afinidad pero presenta gran avidez por antígenos multivalentes especialmente bacterianos. Es una potente fijadora del complemento, al presentar cinco fragmentos Fc que unen al factor del complemento C1q. La IgM se encuentra también en la membrana de linfocitos B en forma de monómero, constituyendo los receptores idiotípicos de estas células.

No atraviesan la barrera placentaria pero pueden ser sintetizadas por el feto desde la vigésima semana de gestación en caso de estimulación antigénica

IgG: Intervienen en la respuesta secundaria está formada por dos cadenas pesadas idénticas (en verde) y dos cadenas livianas (en amarillo) el hidrato de carbono (en turquesa) está unido a las cadenas pesadas. El panel interior muestra la ubicación de las regiones variables (v) y constantes (c) en la molécula de IgG.

Figura 6 Moléculas de IgG



Fuente: <http://books.google.com.ec>

Las secuencias de las regiones del extremo amino (en rojo) de las cadenas pesadas y livianas varían de una molécula de IgG a otra; las regiones restantes son constantes en su secuencia (en azul). En la IgG existe una región de Bisagra flexible entre los dos brazos y el tallo de la Y

Es la inmunoglobulina más abundante en el plasma, es monomérica y es producida en grandes cantidades durante respuestas secundarias a antígenos timo dependientes. Sus principales funciones biológicas incluyen fijación del complemento, unión a receptores para Fc en células fagocíticas al opsonizar partículas durante la fagocitosis y unión a receptores en células NK durante la citotoxicidad mediada por anticuerpos (ADCC). Esta inmunoglobulina atraviesa la placenta confiriendo protección al feto durante el embarazo. (PARHAM, 2006)

IgA: Tienen una acción antibacteriana y antivírica principalmente a nivel de las secreciones naturales; se encuentra en lágrimas, leche, saliva y mucosa del árbol bronquial las vías respiratorias y el tracto digestivo. Está formada por dos unidades básicas unidas por una pieza secretora sintetizada por las células epiteliales de las mucosas. Esta pieza secretora es un polipéptido responsable del transporte de la IgA a

través del epitelio. Además la protege de la acción de enzimas proteolíticas presentes en las secreciones. Es sintetizada en grandes cantidades por acúmulos linfoides y placas de Peyer del intestino. No fija complemento ni es opsonina, sin embargo su importancia es enorme al impedir el ingreso de microorganismos y macromoléculas al organismo.

IgE: Se encuentra en muy bajas concentraciones en el suero de personas normales, y en mayores concentraciones en individuos atópicos. En estos últimos es responsable de los cuadros de hipersensibilidad mediada por un mecanismo de daño inmunológico tipo I de la clasificación de Gell y Coombs. El fragmento Fc de estas inmunoglobulinas presenta gran afinidad por receptores para Fc epsilon en células cebadas y basófilos. Al estar ubicada en su superficie y recibir el estímulo antigénico, la IgE induce su degranulación iniciando un proceso inflamatorio y produciendo la contracción del músculo liso. En condiciones normales, esta inmunoglobulina interviene en la respuesta inmune protectora contra parásitos especialmente helmintos.

IgD: Estos anticuerpos son poco abundantes en la sangre, su existencia se estableció un mieloma de clase diferente a las anteriores. No se sabe que tengan propiedades biológicas particulares pero junto con la IgM son relativamente abundantes en la superficie de los linfocitos B maduros no estimulados por antígeno.

Está prácticamente ausente en el suero. (VILLENNA, 1995)

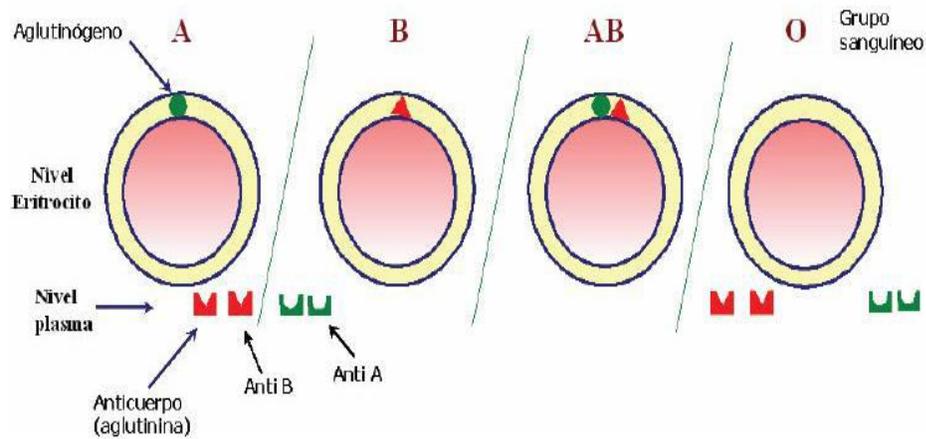
2.2.3.4. Anticuerpos Naturales

Se describen a los anticuerpos naturales aquellos que no necesitan de un estímulo inmunogénico, el cual es reconocido como extraño para el organismo de una persona.

Los anticuerpos anti A y Anti B son producidos por individuos que carecen de los antígenos y su anticuerpo correspondiente, nunca se encuentran juntos en la sangre de una misma persona, dichos anticuerpos son predominantemente del tipo IgM y también

menos frecuentes y de carácter inmunogenico, del tipo IgG, Este tipo de anticuerpos puede ser producidos por individuos del grupo O

Figura 7 Antígenos y anticuerpos



Fuente: Fuente: <http://www.blogdebiologia.com/relaciones-alelicas.html>

La existencia predecible de estos anticuerpos tiene de gran utilidad en las pruebas de clasificación inversa o sérica puesto que sirven de apoyo para la confirmación del grupo sanguíneo hemático y para la resolución de problemas en la clasificación sanguínea.

Esos anticuerpos son considerados “naturales” puesto que aparecen en la circulación de personas que no han tenido transfusiones previas ni embarazos. En los recién nacidos estos anticuerpos están ausentes y se ha observado que su síntesis comienza entre los tres y seis meses de edad, y decrecen en la vejez.

El hecho que los recién nacidos no tengan estos anticuerpos sugiere que debe existir un estímulo persistente en el medio ambiente que induce su producción. En efecto bacteria ubicua en el medio ambiente se ha encontrado sustancias químicamente similares al

antígeno A, B y H, constituyéndose en el estímulo que inicia la producción de los anticuerpos del sistema que generalmente son de clase de inmunoglobulina M.

Por otro lado, la isoimmunización que ocurre tras un embarazo ABO incompatible o la transfusión de glóbulos rojos incompatibles y plasma que contiene sustancias específicas de grupo da origen a la producción de anticuerpos inmunes anti-A y anti-B de tipo IgG capaces de traspasar barrera placentaria.

En las personas de grupo sanguíneo O, aparte de anti-A y el anti-B se encuentra otro anticuerpo denominado anti-AB que se caracteriza por su actividad anti-A y anti-B no puede ser separadas por pruebas de absorción este anticuerpo ha sido llamado anti-C por Winner y se ha sugerido que reaccionan con una estructura común a los determinantes antigénicos de A y B.

La importancia antigénica radica en su utilidad para evidenciar subgrupos débiles del A y del B.

En la mayoría de los casos, los neonatos no poseen anticuerpos en el plasma, ya que estos se producen con el contacto de antígenos similares al A, B y H en los primeros años de vida.

Una persona del grupo A tiene anticuerpos contra el grupo B.

Una persona del grupo B tiene anticuerpos contra en grupo A.

Una persona del grupo O tiene anticuerpos del grupo A y del grupo B.

Una persona del grupo AB no tiene anticuerpos contra el grupo A o el grupo B.

En el caso de las transfusiones de sangre, si se mezclan dos tipos de sangre de igual grupo lo más probable es que no suceda nada, en cambio si se exponen dos tipos de sangre con grupos diferentes, pueden ocurrir diversas complicaciones asociadas a una

respuesta inmune del organismo contra las glicoproteínas de la superficie del eritrocito, produciéndose la aglutinación del hematíe, la cual consiste en la degradación de la membrana, hasta transformarla en una “grumo” el cual puede ser fagocitado por los macrófagos.

Lo que determina la compatibilidad o la incompatibilidad de dos tipos de sangre es la presencia de antígenos, los cuales desencadenan una serie de reacciones entre ellas la producción de anticuerpos, por ejemplo, si una persona del tipo A donara sangre a una persona tipo B, los antígenos del tipo A al ser extraños al cuerpo del receptor, posibilitaran la producción de anticuerpos anti-A, los cuales atacaran al ser foráneo, produciendo su lisis y su posterior eliminación.

Dependiendo de las concentraciones y de la cantidad de la transfusión estas reacciones pueden llegar a ser casi imperceptibles, pueden producir insuficiencia renal, o incluso la muerte. Ya que el sistema inmunológico no es capaz de fagocitar a todos los grumos generados por los anticuerpos, y se pueden alojar casi en cualquier parte del cuerpo.

Los grupo sanguíneo ABO son los más importantes. Los glóbulos rojos presentan cuatro grupos A-B-O-AB los individuos que genéticamente tienen ausencia del antígeno A o del anticuerpo B tienen anticuerpos clase IgM contra el tipo (s) de glóbulos rojos que no han heredado.

Cuando una persona no tiene un antígeno particular en sus eritrocitos, se espera que en su suero contenga un anticuerpo dirigido contra ese antígeno que carece sin embargo la presencia de ese anticuerpo depende si el sistema inmune de la persona ha sido expuesto y ha respondido a este antígeno o a un antígeno similar previamente.

Por lo tanto los anticuerpos del sistema ABO se forman como resultado de la exposición a antígenos similares en partículas de polen, alimentos bacterias y virus. Es así como solo se originan anticuerpos dirigidos contra los antígenos ausentes en los eritrocitos de cada persona. (ROJAS, 2004)

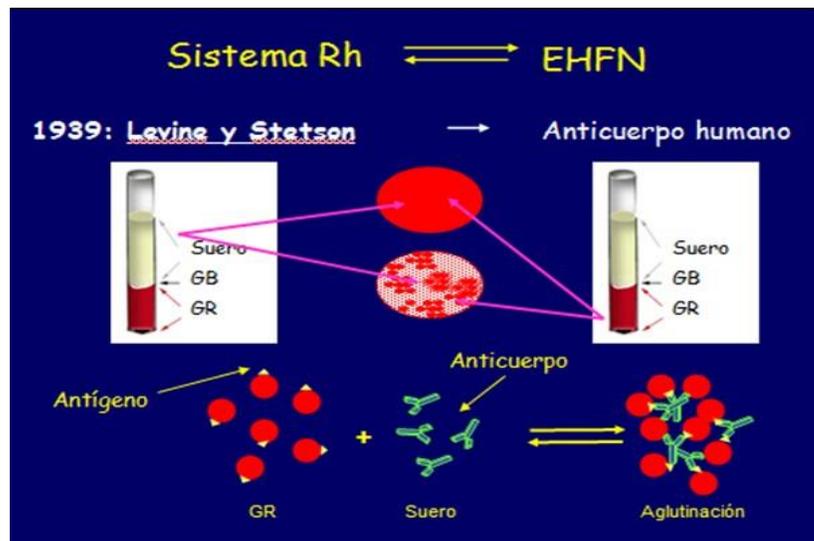
Tabla 1 Esquema Sistema ABO

Grupo de sangre	Antígeno presente en glóbulos rojos	Anticuerpo presente en el plasma
A	A	Anti B
B	B	Anti A
AB	AB	No presenta anticuerpos
O	-	Anti A y B

Fuente: www.google.com.ec/url?sa=i&rct=j&q=&esrc=s&source

2.2.3.5 Anticuerpos Irregulares

Figura 8 Anticuerpos Irregulares



Fuente: <http://slideplayer.es960> × 720

Los anticuerpos del sistema Rh 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 LISS).

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.

Los anticuerpos que se producen en este sistema a diferencia del sistema ABO es que casi siempre son el resultado de una isoinmunización bien sea por transfusiones abortos embarazos.

Los antígenos que más causan inmunización debido a su alto poder inmunogeno son D seguidos por el c y el E.

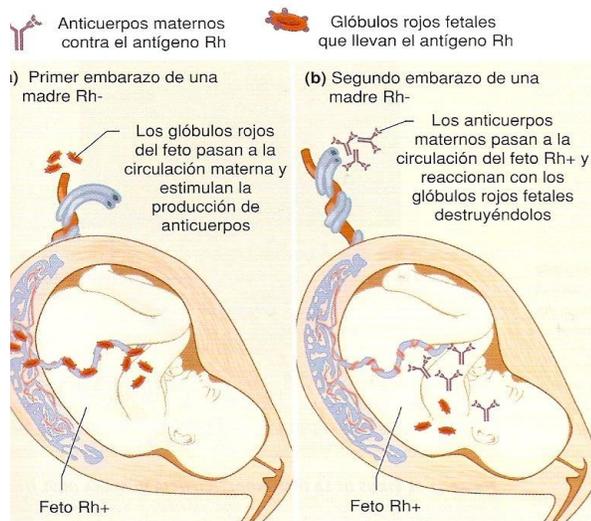
Los anticuerpos que se producen son de clase IgG, que generalmente requieren para su determinación de potenciadores de la reacción antígeno-anticuerpo y normalmente se hace necesario para la prueba de antiglobulina humana para detectarlos.

Los anticuerpos del sistema Rh particularmente el anti-c y anti-E suelen presentar efectos de dosis es decir que su reacción es más fuerte con hematíes homocigotos (cc y EE) para el antígeno que con hematíes heterocigoto (Cc y Ee).

La importancia de los anticuerpos del sistema Rh radica en que por ser inmunoglobulinas de tipo G (IgG) provocan reacciones hemolíticas transfusionales severas y hasta fatales como es la EHRN

El principal antígeno Rh es el D y el anticuerpo presente en quienes carecen de antígeno D es el anti-D. Si el antígeno D está presente el fenotipo es Rh positivo y si D está ausente es Rh negativo. Se han identificado más de 45 antígenos del sistema Rh, pero de todos ellos apenas cinco son frecuentes, estos son: D, C, E, c, e. Los anticuerpos a los distintos antígenos Rh aparecen después de exponerse un individuo Rh negativo a eritrocitos de sangre Rh positivo.

Figura 9 Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido



Fuente: [http:// laphysis.blogspot.com](http://laphysis.blogspot.com)

La herencia de los antígenos Rh es determinada por un complejo de dos genes, de los cuales uno codifica la proteína transportadora de antígeno D y otro codifica la proteína transportadora de antígeno "C" o "c", o de "E" y "e". Las personas Rh positivas poseen genes RHD, que codifica la proteína transportadora de antígeno D y RHCE, que codifica la especificidad de la proteína transportadora de C y E. Mientras el Rh negativo tiene únicamente el gen RHCE. El 45% de los individuos Rh positivos es homocigoto al factor D, y el 55% restante es heterocigoto por haber heredado un factor D positivo y otro negativo de sus progenitores.

La transfusión de sangre de un Rh+ a un Rh- que no tiene dicho aglutinógeno induce la formación de anticuerpos, que en sucesivas donaciones puede aglutinar la sangre (formar coágulos). De ahí que en las donaciones de sangre y órganos se tenga en cuenta dicho factor. (DUEÑAS, 2003)

Investigación de Anticuerpos Inesperados

Dentro de los muchos avances que ocurrieron dentro de la medicina transfusional se encuentra la implementación de técnicas para la detección de anticuerpos y la determinación de su importancia clínica.

Los aloanticuerpos inesperados son anticuerpos (diferentes a los anti A o anti B) que reaccionan con antígenos que están ausentes en la membrana de los hematíes del individuo que los produce.

La producción de estos anticuerpos por parte del individuo ocurre por la iso inmunización con hematíes que posee el o los antígenos a través de embarazos o transfusiones.

La incidencia de los aloanticuerpos inesperados en el suero de las personas oscila entre el 0.3 a 3%.

El objetivo de realizar la investigación de anticuerpos inesperados en los donantes es prevenir la transferencia pasiva de anticuerpos al receptor disminuyendo el riesgo de reacciones post transfusionales

Por otro lado cuando se realiza el rastreo o investigación de anticuerpos inesperados a los donantes y se obtienen resultados negativos, las pruebas cruzadas se acortan en tiempo, dado que se puede obviar la prueba cruzada menor,

Cuando se realiza el rastreo de anticuerpos inesperados a los receptores se hace con el fin de darle mayor seguridad a la transfusión sanguínea.

Aparte de lo mencionado, la investigación de anticuerpos inesperados se usa en los siguientes casos.

Para determinar anticuerpos en mujeres embarazadas que pueden ocasionar enfermedad hemolítica del recién nacido.

- Para el estudio de las reacciones transfusionales
- Para el estudio de las anemias hemolíticas autoinmunes

- Para resolver discrepancias entre la clasificación hemática ABO y la sérica o prueba inversa.

Una vez determinado en el suero del individuo existe un anticuerpo, se pasa a la identificación de dicho anticuerpo, es decir su especificidad y su importancia clínica.

Detección de anticuerpos inesperados

Se realiza a todos los donantes y receptores de sangre a las mujeres embarazadas cuyo feto tiene riesgo de sufrir enfermedad hemolítica del recién nacido, a los receptores de sangre que han presentado reacción transfusional, a los individuos que presentan cuadros clínicos de anemia hemolítica autoinmune

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

Las células son conocidas como células pantalla que generalmente viene identificado con números romanos I, II, III.

Las células pantallas son preparadas a partir de sangre donada por individuos de grupo sanguíneo O. Una vez determinada la presencia o ausencia de los antígenos, D, E, C, e, c, K, k etc, las células son preservadas con agentes que retardan la hemólisis (DUEÑAS, 2003)

2.2.4 Pruebas de Coombs.

La prueba de Coombs, también conocida como prueba de antiglobulina, es un examen de sangre que se usa en inmunología y hematología. Este análisis puede detectar la presencia de anticuerpos en suero que reaccionan con antígenos en la superficie de los glóbulos rojos.

Hay dos tipos distintos de la prueba de Coombs: el directo y el indirecto. La prueba de Coombs directa detecta anticuerpos ya unidos a la superficie de los glóbulos rojos, y la prueba de Coombs indirecta detecta anticuerpos libres que pueden reaccionar in vitro con glóbulos rojos que tienen antígenos específicos.

Nombres alternativos: prueba antiglobulina directa, prueba antiglobulina indirecta, prueba de antiglobulina (MOSBY, 2008)

2.2.4.1 Características

Las inmunoglobulinas tal como otras proteínas, son inmunogenicas cuando se usa para inmunizar individuos de otras especies. Los anticuerpos anti-inmunoglobulinas producidos de esta manera reconoce porciones conservadas de los anticuerpos conocidos como dominios constantes.

El suero de Coombs es una solución que contiene anticuerpos contra la globulina humana, este se mezcla con el suero del paciente, si los hematíes presentan anticuerpos sobre ellos se reducirá aglutinación.

Los anticuerpos anti-inmunoglobulina fueron desarrollados por Robín Coombs, para estudiar la enfermedad Hemolítica del recién nacido o eritroblastosis fetal, y la prueba para determinar dicha enfermedad se llama aun prueba de Coombs.

2.2.4.2 Función

La prueba de Coombs directa detecta directamente anticuerpo unido a los eritrocitos del paciente.

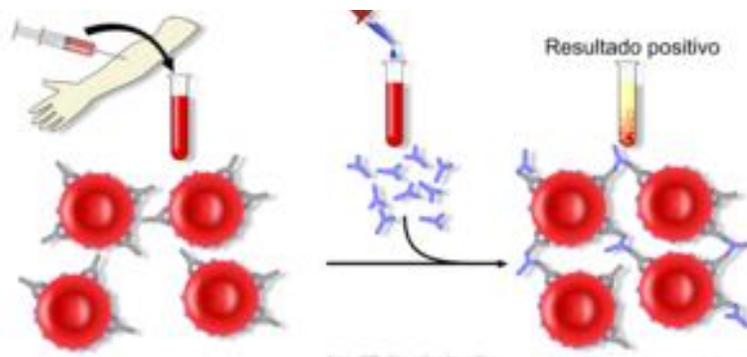
Una prueba de Coombs indirecta se usa para detectar anticuerpos anti. Rh no aglutinantes en el suero que se incubó, primero con eritrocitos para luego lavarse y

removerse los no unidos, finalmente añadir la anti-inmunoglobulina. La prueba indirecta de Coombs permite probar incompatibilidades por Rh.

Esta prueba se realiza para identificar hemólisis lisis eritrocitaria o estudiar las reacciones hemolíticas a la transfusión, es muy útil para la evaluación de la sospecha de reacciones a la transfusión.(GARIBAY, 2006)

2.2.4.3 Coombs Directo

Figura 10 Coombs Directo



Fuente: <http://hasangre.blogspot.com>

El Coombs directo se realiza a pacientes en los primeros momentos de una reacción hemolítica y en el diagnóstico de anemias hemolíticas auto inmunes, hemólisis inducidas por drogas, y enfermedad hemolítica del recién nacido.

Además su empleo es útil en:

- Anemias hemolíticas inducidas por fármacos
- Lupus eritematoso sistémico
- Anemias hemolíticas inmunitarias
- Reacciones a transfusión
- Enfermedad hemolítica del recién nacido(eritroblastosis fetal)
- Trastornos linfoproliferativos, como leucemia linfocítica crónica

- Mononucleosis infecciosa

Fundamento:

Su principio es determinar la sensibilización por hematíes in vitro por anticuerpos no aglutinantes (IGg) y / o fracciones del complemento, específicamente C3d como se mencionó la prueba es útil para confirmar el diagnóstico de la enfermedad hemolítica del recién nacido, la anemia hemolítica autoinmune, la anemia hemolítica inducida por medicamentos, y en la investigación de las reacciones transfusionales.

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

Un segundo mecanismo asociado al coombs directo positivo inducido por medicamentos es la absorción del medicamento a la membrana del hematíe, lo cual promueve la formación de anticuerpos contra el medicamento. Generalmente los anticuerpos formados son de tipo IgG y el complemento se activa eventualmente.

Un tercer mecanismo es el de la autoinmunidad, en el cual por razones no claras el medicamento induce la formación de anticuerpos contra los hematíes. Los anticuerpos son generalmente de la clase IgG y rara vez se activa el complemento.

Un cuarto mecanismo trata sobre la absorción de proteínas a la membrana del hematíe debido a causas no inmunológicas.

Se cree que la absorción de esas proteínas entre la que se encuentra al albumina, inmunoglobulinas y complemento se debe a que el medicamento produce una modificación en la membrana del hematíe promoviendo su absorción no específica.

Por último, existen mecanismos a un no claros por los cuales algunos medicamentos inducen la positividad de la prueba de coombs directa y ocasionan anemia hemolítica. (Clinical, 2012).

Técnica:

Materiales y reactivos

- Tubos de vidrio
- Pipetas Pasteur
- Centrifuga serológica
- Lámpara de lectura
- Suero antiglobulina poli específico (anti-IgG,C3d)
- Células control de coombs
- Solución salina fisiológica 0.9%

Las células control de coombs son hematíes sensibilizadas con IgG humana y sirven como control de la prueba. En especial controla la actividad del suero antiglobulina y la calidad del lavado de las células

Muestra:

Sangre anticoagulada con EDTA, CPD. ACD, PDDA-1, CPDA-2. La muestra debe ser tomada de una adecuada técnica de flebotomía y debe ser procesada inmediatamente.

Procedimiento

- Mesclar la muestra de sangre
- Preparar una suspensión de glóbulos rojos al 2.5% con la solución salina fisiológica
- Dispense una gota de la suspensión de hematíes antes prepara en un tubo
- Llene el tubo (1 cm por debajo de la boca) con solución salina fisiológica, centrifugue 1-2 minutos a 3500 rpm y descarte el sobrenadante completamente.
- Re suspenda el botón de células suavemente y repita el procedimiento hasta completar tres o cuatro lavados
- Después del último lavado descarte completamente la solución salina fisiológica e inmediatamente añada dos gotas del suero anti globulina. Mezcle.
- Centrifugue a 3500 rpm por 15 a 30 segundos
- Re suspenda suavemente el botón de células y observe la presencia o ausencia de hemolisis o aglutinación con ayuda de una lámpara de lectura.
- Si no observa aglutinación, incube por 5 a 10 minutos a temperatura de laboratorio y centrifugue para volver a leer. Este procedimiento es adecuado cuando se quiere evidenciar la sensibilización de los hematíes por fracciones del complemento (C3d) puesto que la incubación incrementa la sensibilidad de la reacción. Sin embargo, es conveniente tener en cuenta que cuando se observan reacciones débiles de aglutinación debidas a la actividad IgG, la incubación y re centrifugación pueden negativizar la reacción, arrojando un falso resultado negativo.
- Si el resultado negativo persiste agregue una gota de células control de Coombs, mezcle y centrifugue a 3500 rpm por 15 a 30 segundos.
- Re suspenda suavemente el botón de células en este paso debe observar aglutinaciones de 1-2 + de los hematíes.
- El no observar aglutinación en este paso invalida la prueba ya que sugiere un mal lavado de células o la inactividad del reactivo

Interpretación

La aglutinación de los hematíes por el suero anti globulina poli específico indica que estos fueron sensibilizados in vivo con anticuerpos no aglutinantes (IgG) y/o con fracciones del complemento C3d.

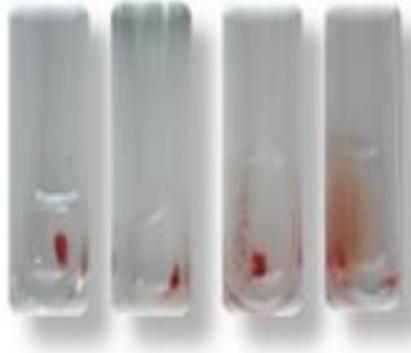
El resultado será reportado como Coombs directo o prueba de la anti globulina directa positiva, indicando el grado de aglutinación, el cual va desde débil (d) hasta 4+

La no aglutinación indica no hubo sensibilización in vivo de los hematíes o que a pesar de haberla, la sensibilidad de la prueba no es suficiente para detectarla (RODRIGUEZ 2012)

Figura 11 Intensidad de la Reacción

INTENSIDAD DE LA REACCION

4+ 3+ 2+ 1+



Fuente: <http://es.slideshare.net/stterapia>

Tabla 2 Grado de Aglutinación de los Hematíes en la prueba de la Antiglobulina Directa e Indirecta

GRADO DE REACCIÓN	DESCRIPCIÓN
0	No hay aglutinación visible de los hematíes macro y microscópicamente después de agitar suavemente el tubo.
1+	El botón se divide en numerosos pedacitos después de agitar suavemente el tubo. El fondo se observa muy coloreado.
2+	El botón de hematíes se divide en varios trozos grandes después de agitar suavemente el tubo.
3+	El botón de hematíes se divide en varios trozos grandes después de agitar suavemente el tubo.
4+	El botón de hematíes permanece intacto o se divide en dos o tres trozos después de agitar suavemente el tubo.

Fuente: Dueñas Víctor Banco de Sangre

Tabla 3 Anticuerpos con significado clínico

Clínicamente significativos	Significativos si reaccionan a 37°C	Significativos algunas veces	Clínicamente benignos
ABO	Lea	Yt ^a	Chido/Rodgers
Rh	M, N	G	JMH
Kell	P1	Gy ^a	Knops
Duffy	Lutheran	Hy	Bg
Kidd	A1	At ^a	Xg
SsU	Sda	Colton	Csa
Vel	AnWj	Cromer	Yk ^a
PP1Pk		Dombrock	McC ^a
H (Oh)		Indian	
		Jra	
		Lan	
		LW	
		Scianna	

Fuente: Dra. Fabiana bastos- Universidad Buenos Aires.

Limitaciones del procedimiento

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

Falsos negativos

Las reacciones falsas negativas pueden ocurrir:

- Cuando se realiza un deficiente lavado de los hematíes a analizar.

Un mal lavado deja trazas de inmunoglobulinas y complemento no fijados que pueden inactivar el reactivo de antiglobulina produciendo resultando falsos negativos

- Cuando el anticuerpo se eluye de las células mediante la incubación o el lavado para evitar que los anticuerpos que sensibilizan la célula se desprendan de ella, es conveniente realizar la prueba de una forma ininterrumpida.

La adición del suero antiglobulina debe hacerse inmediatamente se termine los lavados de los hematíes y seguido se debe centrifugar y realizar la lectura.

El proceso de lavado debe hacerse rápido no es conveniente dejar los tubos con salina por largos periodos de tiempo, ya esto podría provocar la elución de los anticuerpos arrojando resultados falsos negativos.

- Cuando los hematíes o el suero antiglobulina son almacenados inapropiadamente.

Las muestras de sangre que no vayan a ser inmediatamente analizadas deben ser refrigeradas a 2-8°C para evitar una pérdida de reactividad.

Es preferible analizar las muestras frescas para obtener resultados confiables.

Por su parte el suero antiglobulina debe ser almacenado de 2-8°C cuando no se esté utilizando.

Antes de usar el reactivo de Coombs se debe dejar alcanzar la temperatura ambiente y controlarlo con células sensibilizadas.

- Cuando se realiza una centrifugación inadecuada
- Cuando se agita vigorosamente los tubos en la fase de lectura, lo cual desvanece las reacciones de aglutinación débiles
- Cuando se re centrifugan tubos en los cuales se observó inicialmente una reacción de aglutinación débil o dudosa

Falsos Positivos

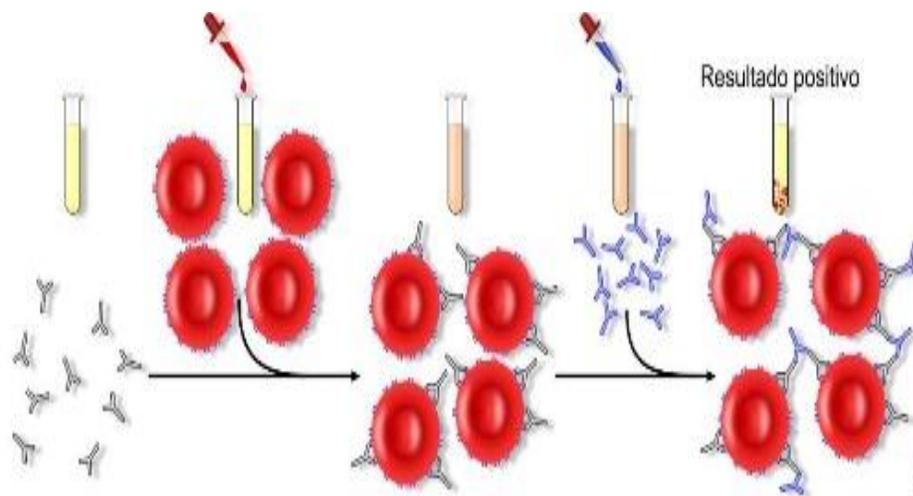
Por parte las reacciones falsas positivas en la prueba de antiglobulina directa ocurre cuando

- Los hematíes se han contaminado, con agentes microbianos, debido a su inadecuado manejo y almacenamiento.

La centrifugación de los tubos es inadecuada (exceso de centrifugación) (DUEÑAS, 2003)

2.2.4.4 Coombs Indirecto.

Figura 12 Coombs Indirecto



Fuente: <http://es.slideshare.net/stterapia>

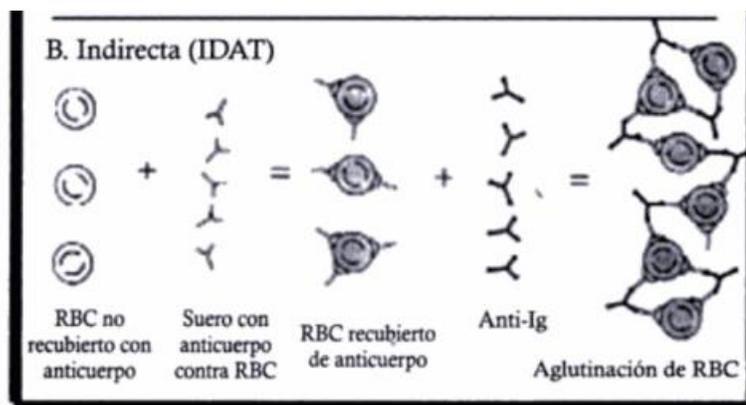
También conocido como: prueba de antiglobulina indirecta, screening de anticuerpos, células I, II o III o pantallas I, II, o III Se utiliza para determinar la presencia de anticuerpos no aglutinantes en el suero o plasma de sujetos sensibilizados a uno o más antígenos

Es útil en el estudio de suero de mujeres con isoimmunización materno-fetal y se emplea también en otro tipo de pruebas como la identificación de auto anticuerpos, pruebas de compatibilidad sanguínea y en la búsqueda de anticuerpos no aglutinantes contra microorganismos principalmente bacterias.

El principio de la prueba de la antiglobulina indirecta, es determinar la sensibilización invitro de los hematíes con moléculas de anticuerpos no aglutinantes (IgG)

En la prueba, los hematíes y el suero que contienen los anticuerpos y el complemento son incubados (tiempo y temperatura adecuada) bajo la acción d un potenciador que generalmente es la albumina, soluciones de bajo poder iónico. (ABBAS, 2012).

Figura 13 Interpretación Esquemática de la Técnica de la Prueba Indirecta de Coombs



Fuente: Inmunología de Abbas

Técnica:

Materiales

- Tubos de 12 x 75
- Suero o plasma del receptor
- Suspensión de células del receptor
- Solución salina al 0.9%
- Suspensión de células I
- Suspensión de células II
- Suspensión de células III
- Pipetas Pasteur
- LISS
- Reactivo de AHG (Anti- Globulina Humana Poliespecifica)
- Células control Coombs
- Gradillas para tubos
- Centrifuga inmunohematológica
- Baño María a 37°C
- Cronometro

FASE SALINA

- Resuspender suavemente la suspensión de eritrocitos o pantallas I, II y III invirtiendo los frascos varias veces.

- Identificar 4 tubos de vidrio como I, II, III y autocontrol.
- Colocar una gota de suspensión de células I, II y III en el tubo correspondiente, y gota de la suspensión de células del receptor en el tubo del control.
- Anadir dos gotas de suero o plasma del receptor.
- Mezclar cuidadosamente e incubar 5 minutos a temperatura ambiente.
- Centrifugar 15 segundos a 3000 rpm.
- Resuspender los eritrocitos cuidadosamente y realizar la observación macroscópica, sobre una fuente de luz indirecta observando si existe aglutinación o hemólisis.

FASE DE LISS

- Colocar a cada tubo 4 gotas de LISS
- Agitar suavemente e incubar 8 minutos a 37 °C
- Luego centrifugar 15 segundos a 3000 rpm.
- Resuspender los eritrocitos y realizar observación macroscópica, sobre una fuente de luz indirecta comprobando si existe aglutinación o hemólisis.

FASE AHG (ANTI-GLOBULINA HUMANA POLI ESPECÍFICA)

- Lavar tres veces el contenido de los tubos con solución salina al 0.9%, eliminando el sobrenadante, cada lavado 1 minutos a 3000 rpm.
- Añadir a cada tubo dos gotas de AHG
- Mezclar suavemente y centrifugar 15 segundos a 3000 rpm.

- Resuspender los eritrocitos sobre una lámpara de luz indirecta y comprobar que exista 2+ de aglutinación que demuestre que el reactivo utilizado está funcionando correctamente.

Interpretación de Resultados

- Una reacción negativa indica la ausencia de anticuerpos irregulares detectables en el suero o plasma del receptor
- Una reacción positiva indica la presencia de anticuerpos irregulares.
- Cuando se utiliza hematíes comerciales registrar en la tabla de antígenos y compararlos con el patrón de reacción y la configuración de antígenos puede indicar el tipo de anticuerpo presente. Se debe realizar pruebas adicionales para identificar el tipo de anticuerpo.
- Una reacción positiva con una o más células reactivas y un auto control negativo sugiera la presencia de un alo anticuerpo específico
- Una reacción positivo con una o más células reactivas y un auto control positivo puede deberse a un autoanticuerpo.
- Si existe una reacción positiva con todas las células reactivas y un autocontrol positivo pero a su vez, se detecta que la reacción positiva con una o varias de las células reactivas es más intensa que la observada en el autocontrol, será preciso descartar en el paciente la posible presencia de un aloanticuerpo subyacente.
(JARAMILLO, 2012)

Variables o factores que afectan la sensibilidad de la prueba de la antiglobulina indirecta

La prueba antiglobulina directa puede ser dividida en cuatro fases y cada una de ellas es afectada por diferentes variables o factores:

- **Fase de sensibilización.**- en esta los hematíes son incubados in vitro con el suero la sensibilización depende de variables como la temperatura, el medio de reacción, la proporción células suero y el tiempo de incubación.
- **Fase de lavado:** esta fase tiene como propósito eliminar los anticuerpos y/o el complemento no unido a los hematíes.

Las variables que la afectan son tiempo de lavado, volumen de la solución salina, residuos de la solución salina entre lavado y lavado, velocidad y tiempo de centrifugación.

- **Fase de antiglobulina y lectura:** en la cual se trata de evidenciar si los hematíes fueron sensibilizados in vitro con anticuerpos tipo IgG y/o complemento (C3d).

Las variables que pueden afectar esta fase son el volumen del suero antiglobulina, la velocidad y tiempo de centrifugación y el modo de realizar la lectura de la prueba.

- **Fase de control:** al igual que para la prueba de antiglobulina directa, cuando no se observa aglutinación de los hematíes con el suero antiglobulina debe controlarse con células sensibilizadas (células control Coombs).

Los cuadros muestran los factores o variables que afectan cada fase de la prueba y los valores y descripción de ellos para no incurrir en falsos resultados negativos (DUEÑAS, 2003)

Tabla 4 Variables que afectan la sensibilidad de la prueba de la antiglobulina directa en la fase de sensibilización

VARIABLE	VALOR O DESCRIPCIÓN
Temperatura de incubación	La temperatura optima de reacción de los anticuerpos de importancia clínica es de 37° C
Medio de reacción	La reacción antígeno anticuerpo debe potenciarse con solución de bajo poder iónico (LISS) o con albumina. Estos potenciadores aumentan la capacidad de anticuerpos por los hematíes, incrementando la sensibilidad de la prueba
Reacción células-suero	Comúnmente se usa una gota de suero por una de hematíes suspendidos al 2-5% en solución salina fisiológica
Tiempo de incubación	El tiempo de incubación depende del potenciador utilizado. Cuando se usa albumina un tiempo de incubación de 30 minutos es suficiente para determinar la mayoría de anticuerpos de importancia clínica. Cuando se usa LISS el tiempo de incubación varía de 10 a 15 minutos.

Fuente: Banco de Sangre Dueñas Víctor

Tabla 5 Variables que afectan la sensibilidad de la prueba de la antiglobulina indirecta en la fase de sensibilización

VARIABLE	VALOR O DESCRIPCIÓN
Tiempo de lavado	El lavado de las células debe iniciarse inmediatamente finalizado el tiempo de incubación. El proceso de lavado debe ser continuo para evitar la elación de los anticuerpos de los hematíes
Volumen de suero fisiológico	El volumen del SSF en cada lavado debe ser mínimo de 3 ml, esto se logra llenando hasta un centímetro por debajo de la boca de los tubos de 12 x 75
Resuspensión del botón de células	Entre lavado y lavado antes de adicionar nuevamente el SSF al tubo el botón de hematíes debe ser re suspendido para asegurar e adecuado lavado.
Residuo de SSF	El residuo de SSF que queda al decantar el sobrenadante en el proceso de lavado debe ser lo más bajo posible. Esto se logra invirtiendo los tubos unos segundos sobre una compresa limpia y seca.
Velocidad y tiempo de centrifugación	Para evitar la pérdida de células entre lavado y lavado es conveniente centrifugar los tubos 15 segundos a 3500 rpm

Fuente: Banco de Sangre Dueñas Víctor

Causas de Falsos Positivos en la Prueba de Inmunoglobulina Directa.

Tabla 6 Variables que afectan la sensibilidad de la prueba de la antiglobulina indirecta en la fase de antiglobulina y lectura

VARIABLE	VALOR O DESCRIPCIÓN
Volumen del suero	Usualmente se usan dos gotas del suero antiglobulina. Sin embargo, es conveniente seguir las instrucciones del fabricante del reactivo.
Velocidad y tiempo de centrifugación	Para la fase de antiglobulina y lectura se recomienda centrifugar los tubos a 3500 rpm por 15 segundos. Este procedimiento permite una adecuada lectura y evita falsos positivos o negativos por exceso o falta de centrifugación respectivamente.
Modo de realizar la lectura	Para una adecuada lectura, los tubos deben tomarse formando un ángulo de 45° con respecto a la lámpara de lectura. Los movimientos para la resuspensión del botón de las células deben ser suaves pero firmes para evitar que reacciones de aglutinación débil sean pasadas por alto.

Fuente: Banco de Sangre Dueñas Víctor

Tabla 7 Variables que afectan la sensibilidad de la prueba de la antiglobulina indirecta en la fase de antiglobulina y lectura

CAUSA DE FALSO POSITIVO	MODO DE PREVENIR LA SITUACION
Contaminación bacteriana de muestra de sangre y o reactivos	Procesar inmediatamente las muestras. Cuando no se vayas a procesar inmediatamente, refrigerarlas a 2-8 °C
Hematíes previamente sensibilizados in-vivo	Utilizar hematíes que presenten un Coombs directo positivo para la realización de la prueba de antiglobulina indirecta (pruebas cruzadas variante Du) es causa de falsos resultados positivos. Esta situación se evita haciendo elución de los anticuerpos fijados a las células y repitiendo la prueba con los hematíes así tratados.
Contaminación de las solución salina con sílice coloidal	La solución salina debe ser almacenada en recipientes de plástico para evita su contaminación con sílice coloidal proveniente del vidrio.
Contaminación del material de vidrio	Usar tubos limpios y libres de polvo detergentes y otros elementos que puedan producir agregación no específica de los hematíes.

Fuente: Banco de Sangre Dueñas Víctor

2.2.4.5 Fundamento del Descarte

La realización de las pruebas antiglobulínicas tienen como objetivo detectar la presencia de anticuerpos de los glóbulos rojos inespecíficos o inesperados, que pueden ser causantes de reacciones hemolíticas.

Aparecen por estímulos antigénicos a consecuencia de transfusiones de sangre o embarazos incompatibles, los anticuerpos inespecíficos son de tipo IgG, su rango de reacción óptima es de 37°C.

Las pruebas antiglobulínicas indirectas se las realizan mediante el empleo de un panel de células conocidas como pantallas y su confirmación se lo hace empleando el multipanel de células.

De acuerdo a la variación y combinación de células humanas marcadas con antígenos eritrocitarios pueden detectar uno o más anticuerpos de tipo irregulares y su lectura se da mediante la apreciación microscópica del aglutinado, el cual se compara con la secuencia de reacción en la cartilla de referencia, empleando el signo (+) como reacción y el (0) como una no reacción de aglutinación.

La primera prueba empleada es el panel de tres células llamadas pantallas I-II y III en este ensayo los resultados suelen darse en la positividad o negatividad, al ser el segundo reporte se registra como resultado negativo al coombs indirecto, si el resultado es positivo se detecta o compara la secuencia de reacción empezando en el tubo I, luego el II y por último el III.

Los resultados pueden ser uno o más anticuerpos, por lo tanto al tener una combinación de anticuerpos como reporte y que pueden o no pertenecer a un mismo sistema de grupos sanguíneos se procede a realizar la segunda prueba llamada multipanel de células, el principio de la prueba es la misma a la anterior (pantallas) aquí se aumenta el número de ensayos, ya no sería tres ensayos, en esta ocasión se hace 11 ensayos, el número de pruebas de once determinaciones permite ampliar la identificación del anticuerpo que se observó en la lectura de las pantallas.

Los resultados pueden ser simples de identificarlos cuando coinciden las reacciones de las once determinaciones con la cartilla del multipanel así por ejemplo se puede identificar anticuerpos dirigidos a los antígenos del sistema Rh.

Pero como interpretar los resultados cuando las reacciones de las once determinaciones no coincide con las secuencias de la cartilla, esto parece ser un resultado difícil de interpretar, lo que se procede a realizar es el descarte, este procedimiento permite anular el resultado de la cartilla pre impresa para eliminar resultados y dejar de manera más específica la interpretación del o los anticuerpo al que se puede relacionar el ensayo.

Se procede aplicar la siguiente regla: los resultados obtenidos como negativos anulan a los resultados positivos impresos en la cartilla, esta anulación puede presentarse en la primera determinación (1) o en cualquiera de las 11 determinaciones que registra la plantilla, cuando se anula por la aplicación del descarte se anula toda la columna así nos permite eliminar reportes que confunden la identificación específica del ensayo.

Los reportes al final de la aplicación del descarte pueden tener más de un anticuerpos, esto ayuda en la selección de sangre para evitar transfundir hematíes que contienen el antígeno dirigido al anticuerpo del paciente, evitando así reacciones a la transfusión de manera inmediata o tardía.

2.2.4.6 Técnica de pantallas I – II Y III

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

Método.

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

Reportar.

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

Interpretación de Resultados

Pantallas I – II

Interpretación de resultados en ensayos negativos Los resultados negativos darán positividad con células control Coombs si se mantuviera la negatividad el ensayo no es válido

Interpretación de resultados en ensayos positivos

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

Pantalla I – II y III.

Interpretación

Los resultados de pantallas I – II son positivos, mientras que los resultados de pantallas III, es negativo pero su interpretación mejora para el anticuerpo Anti-D, debido a la

reacción con la pantalla tres por su composición antigénica c,c,d,e,e, que descarta al anticuerpo anti-D, por esta razón es una prueba confirmatoria.

Figura 14 Pantallas Positivas



Fuente: Servicio de Medicina Transfusional – HPGDR

2.2.4.7 Prueba de Pantalla y Multipanel.

Figura 15 Multipanel de Células



Fuente: Servicio de Medicina Transfusional – HPGDR

El panel es realizado para identificar anticuerpos irregulares en el suero de pacientes que tienen un tamizaje positivo, para identificar anticuerpos desconocidos. Es también hecho

sobre suspensión de células rojas que tienen un test positivo anti globulina directa. La identificación de los anticuerpos es necesaria antes de cualquier transfusión, si el tamizaje es positivo. Esta prueba es utilizada en estudios de pacientes obstétricas con anticuerpos positivos, para el diagnóstico prenatal, de una posible enfermedad hemolítica del recién nacido y en estudios de anemia hemolítica cuando el coombs directo o indirecto son positivos.

Fase salina 1

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

Fase Liss:

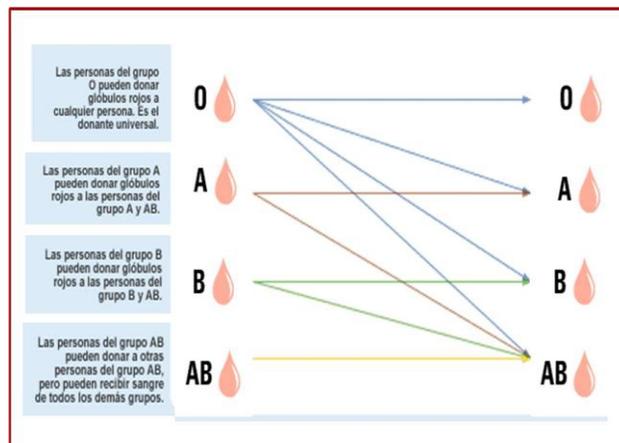
- Añada a cada tubo 2 gotas (100 ul) de LISS
- Agite suavemente e incube durante 15 minutos a 37°C.
- Centrifugue 20 segundos a 3500 rpm.
- Resuspenda cuidadosamente los eritrocitos y realice una observación macroscópica sobre una fuente de luz directa comprobando si exista aglutinación.

Fase (Coombs):

- Lave 3 veces al contenido de los tubos con solución salina isotónica y elimine.
- Añada a cada tubo 2 gotas (100 ul) de “Coombs-serum”.
- Mezclar suavemente y centrifugo durante 20 segundos a 3500.
- Resuspenda cuidadosamente los eritrocitos y realice una observación macroscópica sobre una fuente da luz directa comprobando si existe aglutinación.
- Confirme los resultados negativos con “DiaMad Coombs-Costrollg°.” (JARAMILLO, 2010)

2.2.5 Pruebas de Compatibilidad

Figura 16 Grupos Sanguíneos



Fuente: <http://horacioalarcon-dvs.blogspot.com>

Dentro del campo de la transfusión se puede decir que es una fortuna que exista una alta correlación entre las pruebas serológicas o de compatibilidad in vitro. Las pruebas de

compatibilidad es un procedimiento de laboratorio que permite conocer si existe compatibilidad serológica entre la sangre de una persona donante y la de un receptor.

La prueba de compatibilidad sanguínea es la más importante efectuada en un servicio transfusional. Es importante señalar que un error en la prueba de compatibilidad puede conducir a una reacción hemolítica, cuyas consecuencias pueden ser incluso fatales.

El propósito de la pruebas de Compatibilidad es prevenir la transfusión de sangre incompatible. Este procedimiento incluye pruebas cruzadas Mayor y Menor, que tienen como función poner de manifiesto la existencia de anticuerpos dirigidos contra antígenos de sistemas menores o secundarios.

Estas pruebas deben realizarse en diferentes condiciones que favorezcan la reacción antígeno-anticuerpo y la formación de aglutinados celulares, tales pruebas se efectúan rutinariamente en solución salina al 0.9% en este medio los anticuerpos que aglutinan son los de clase IgM.

El empleo de albumina bovina facilita la detección de anticuerpos de la clase IgG, ya que estos se ven impedidos muy frecuentemente en su efecto aglutinante por el potencial Z (fuerza de repulsión entre eritrocitos por las cargas eléctricas negativas sobre las membranas). La anti inmunoglobulina de Coombs se utiliza para poner de manifiesto anticuerpos unidos a la membrana de los eritrocitos que no tienen actividad aglutinante.

La prueba cruzada consiste en poner en contacto el suero del receptor con los glóbulos rojos del donante a esta se la llama Prueba Cruzada Mayor, y suero del donador con eritrocitos del receptor se denomina Prueba Cruzada Menor esta prueba es un requerimiento fundamental porque es la mejor manera de detectar anticuerpos que puedan dañar las células rojas transfundidas y causar una reacción hemolítica transfusional.

Estas pruebas tienen como objetivos:

Garantizar que los eritrocitos a transfundir son ABO compatibles con el receptor.

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

Sinónimos

Pruebas de compatibilidad sanguínea.

Pruebas cruzadas.

Pruebas pre transfusionales.

Cross match.

Clasificación

- Prueba cruzada mayor
- Prueba cruzada menor.
- Testigo o autocontrol

Limitaciones

- No garantizan la sobrevivencia normal de los glóbulos rojos transfundidos.
- No previene la inmunización del receptor.
- No detectan errores en la clasificación del sistema ABO.
- No detectan errores en la clasificación Rh.
- No previenen reacciones hemolíticas tardías, secundarias a reacciones a amnéticas hacia antígenos contra los cuales el paciente había sido previamente inmunizado.
- No detectan anticuerpos anti-leucocitarios, anti-plaquetarios, o contra proteínas del suero.

Las pruebas de compatibilidad comprenden una serie de procedimientos que deben realizarse correctamente para que la transfusión de sangre sea segura. Entre estos están:

Identificación y estudio clínico del paciente y colección de la muestra adecuadamente.

Estudios del receptor: determinación de los antígenos ABO/ Rh y Coombs Directo estas deben resolverse antes de proceder a la prueba cruzada.

2.2.5.1. Prueba Cruzada Mayor.

Que consta de poner en contacto el plasma del receptor con eritrocitos del donante que esto conocemos como prueba mayor. Se requiere de esta prueba ya que es la mejor manera de detectar anticuerpos que puedan dañar las células transfundidas y tener una reacción hemolítica transfusional, de igual manera se necesita de una prueba menor que hace reaccionar el plasma del donador con las células del receptor. En el caso de una incompatibilidad puede presentar aglutinación o hemolisis, dependiendo la salud de nuestro receptor de la buena realización de estas pruebas.

Principio

Consiste en enfrentar el suero del receptor con Glóbulos rojos del donante esta se estudia en diferentes temperaturas en un medio de reacción (potenciador) si en el suero del receptor hubiera un anticuerpo dirigido contra un antígeno sobre los glóbulos rojos del donante se observara aglutinación y o hemolisis.

Permite conocer si existe afinidad serológica entre la sangre de una persona donante y la de un receptor.

Técnica del lavado de células eliminación buffy coate (leucocitos agregados y plaquetas)

Requerimientos

- Tubos de ensayo (12x75)
- Pipetas Pasteur
- Gradilla
- Centrifuga
- Demográfico
- Guantes

- Mandil
- Solución salina

Muestras

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

Procedimiento

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

Suspensión celular al 5%

En un tubo de 12x75 dispensar 19 gotas de SSF y adicionar una gota de GR
Homogenizar y mantener en refrigeración (4°C).

Técnica de la prueba Cruzada Mayor

Reactivos suministros y equipos

- Albumina bovina 22% o Liss
- Suero de Combs
- Células control de coombs (sensibilizadas con Ig G)
- Tubos de vidrio
- Pipetas Pasteur
- Centrifuga
- Baño maría 37 °C
- Lámpara de luz blanca

- Lente de magnificación

FASE I: Centrifugación salina inmediata

- Preparar una suspensión de GR del donante (paquete globular).
- Rotular con PC.
- Colocar 2 gotas del suero problema (suero del receptor).
- Colocar una gota del GR suspendidos.
- Mezclar, centrifugar los tubos a 3500 rpm durante 15 segundos.
- Observar la presencia de hemolisis o aglutinación anotar los resultados por cruces.

FASE II: Térmica

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

FASE III: Antiglobulínica

- Lavar tres veces con solución salina fisiológica al 0.9%.
- Se llena el tubo hasta cerca del borde con solución salina al 0.9%. Se centrifuga a 3500 r.p.m. durante un minuto.
- Se decanta todo se adiciona uno o dos gotas de solución salina, se re suspende el botón se vuelve a llenar y se repite el paso anterior.
- Agregar dos gotas de Antiglobulina humana mezclar, centrifugar 3500 rpm durante 15 segundos y leer.
- Los resultados negativos deben ser comprobados con células control Coombs.

Figura 17 Células de control coombs comercial.



Fuente: <http://www.grupolabca.com.mx/laboratorios%20clinicos/Licon/banco%20de%20sangre>

Interpretación

Si no hay hemolisis y/o aglutinación: Prueba cruzada compatible.

Si hay hemolisis y/ o aglutinación: Prueba cruzada incompatible

Prueba positiva

La aglutinación indica incompatibilidad ya que significa que algún Ac del suero del receptor se ha unido a los hematíes del donante. La valoración se puede hacer con cruces, o bien se puede hacer una prueba cruzada titulada empleando diluciones dobles progresivas.

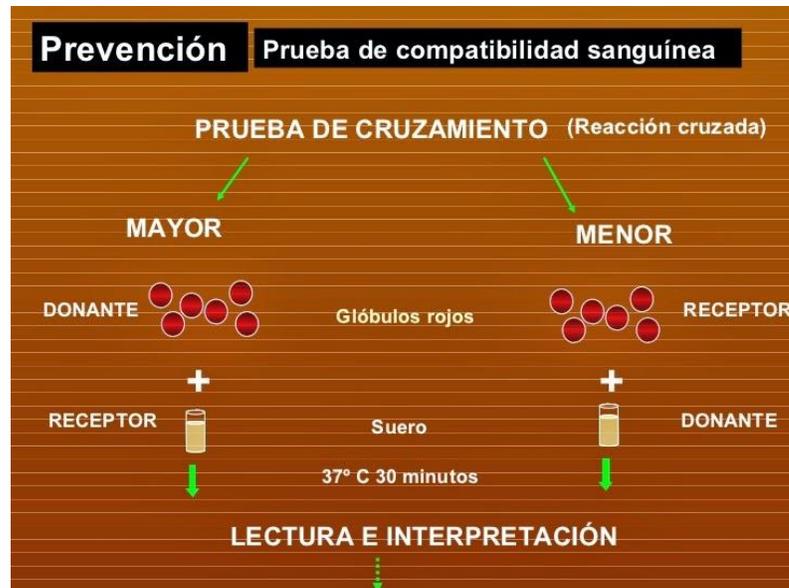
Para diferenciar aloAc de los autoAc se debe disponer de un autocontrol, y cuando éste es negativo se sospecha la existencia de aloAc en una prueba cruzada incompatible. Los Ac se deben identificar antes de que el paciente reciba la transfusión.

Si el autocontrol es positivo se sospecha la presencia de autoAc.

Los aloAc producen reacciones transfusionales más graves que los autoAc.
(JARAMILLO, 2010)

2.2.5.2. Prueba Cruzada Menor

Figura 18 Pruebas de Compatibilidad



Fuente: deliamm96cuadernopracticashema14.blogspot.com

Fundamento:

Consiste en poner a reaccionar el suero del donador con los eritrocitos del receptor. Se la realiza para determinar el tipo de sangre y su compatibilidad

En ella el suero del donante se enfrenta con hematíes del paciente. (Se llama menor porque el plasma del donante sufre una dilución rápida al entrar en el torrente sanguíneo del receptor, lo que hace que los problemas debidos a los Ac transfundidos sean menores en el peor de los casos).

Actualmente se utiliza poco, debido al uso generalizado de los concentrados de hematíes y a la detección habitual de los Ac en la sangre del donante. Sin embargo cuando se utilice un gran volumen de plasma si está aconsejada su realización.

Esta prueba puede, también, poner de manifiesto la presencia de Ac del donante contra Ag de baja frecuencia.

Premisas para la Realización de una Prueba Cruzada Perfecta

Es importante recordar que un error en la realización de las pruebas cruzadas puede producir en el receptor efectos que van desde una reacción transfusional leve hasta la muerte.

Gran parte de la responsabilidad de ejecutar una prueba cruzada de calidad recae sobre el banco de sangre, sin embargo, no debemos perder de vista que existen algunas variables que se escapan al control del banco de sangre y que pueden afectar la calidad que evite la transfusión de sangre incompatible y reduce

La correcta Identificación del Receptor y de la Muestra de la Sangre

En los bancos de sangre es frecuente que la toma de la muestra del receptor no sea una responsabilidad directa del servicio. Generalmente la muestra llega al banco acompañada de una solicitud de transfusión.

La transfusión accidental de una muestra de sangre ABO incompatible es la causa más frecuente de reacciones transfusionales.

Varias causas contribuyentes a este fenómeno han sido asociadas entre ellas se encuentran la mala identificación del receptor cuando fue tomada la muestra de sangre para la realización de las pruebas de compatibilidad, la confusión de las muestras en el laboratorio y la mala identificación del paciente al momento de la transfusión. Es apenas lógico que nada gane el banco de sangre con realizar pruebas cruzadas perfectas si la muestra no corresponde al receptor, o si al final la sangre resulta siendo transfundida a otro paciente diferente al que iba destinada.

La mala identificación de los pacientes es un problema que ocurre con cierta frecuencia en los hospitales es por ello una tarea fundamental del banco de sangre debe ser la de concientizar e instruir al personal que toma las muestras y en realizar correctamente las hemoclasificaciones. Y por último el acto de la transfusión debe realizarse una vez que

se tenga plena certeza sobre la identificación del paciente y durante la transfusión se debe monitorear constantemente la evolución del receptor.

La correcta hemoclasificación del receptor

Cuando llega la solicitud al banco de sangre para la transfusión acompañada de las muestras de sangre se debe comprobar que los datos consignados en la solicitud y en el vial de la muestra coincidan correctamente.

La clasificación sanguínea ABO del receptor deben hacerse utilizando los hematíes (clasificación directa) y el suero o plasma (clasificación inversa).

La clasificación Rh también debe ser realizada, cualquier discrepancia en la clasificación debe ser resuelta antes de realizar las pruebas cruzadas.

Selección de la sangre adecuada.

La sangre se selecciona de tal modo que sea compatible ABO y Rh con el receptor.

En los bancos de sangre, las unidades aptas para la trasfundir se encuentra previamente hemoclasificadas sin embargo es conveniente re chequear el grupo sanguíneo

Si el grupo sanguíneo ABO que necesita el receptor no se encuentra disponible en el banco de sangre, existen alternativas las cuales deben ser evaluados por el médico responsable del paciente.

Elección de reactivos de calidad y ejecución de las pruebas de acuerdo al manual de procedimientos

Un requerimiento básico es la garantía de calidad en la elección de los mejores del mercado que garanticen la ejecución de procedimientos correctos.

Los reactivos para la hemoclasificación ABO Rh así como las soluciones potenciadores deben ser de la mejor calidad posible.

No obstante se elijan reactivos de excelente calidad eso no significa nada si el analista no realiza los procedimientos de acuerdo al manual existente y siguiendo las recomendaciones del fabricante del reactivo.

Los procedimientos que involucran las pruebas de compatibilidad como son la clasificación ABO y Rh y pruebas cruzadas deben ser ejecutadas aplicando controles y criterios claros de interpretación.

2.3 Definición de Términos Básicos

1. **Aglutinación.-** Proceso por el cual los glóbulos rojos se unen y ligan entre sí.
2. **Alloinmunización.-** Es la generación de aloanticuerpos o anticuerpos irregulares o isoanticuerpos, generalmente de las de las células sanguíneas como consecuencia de embarazo o transfusión anterior.
3. **Anemia hemolítica.-** es una afección en la cual hay un número insuficiente de glóbulos rojos en la sangre, debido a su destrucción prematura.
4. **Anticuerpo.-** Molécula producida por los animales como respuesta a un antígeno, que tiene la propiedad de combinarse específicamente con el antígeno que indujo su producción.
5. **Antígeno.-** Molécula que reacciona con un anticuerpo formado previamente en los receptores específicos de las células T y B.
6. **Anticuerpos naturales.-** Son 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.
7. **Antígenos alogénicos (Homólogos).** Están presentes en individuos de una especie no iguales genéticamente.
8. **Antígenos autógenos (Autólogos).** Del mismo individuo.

9. **Antígenos de diferenciación.** Estructuras de superficie celular encontradas solamente en células de un determinado tipo o estadio de su desarrollo, identificados por el uso de anticuerpos específicos (de ahí el nombre de antígenos).
10. **Antígenos dependientes e independientes de células T.** Los antígenos dependientes de células T deben ser reconocidos por las células T y B para inducir una respuesta inmunitaria. Por el contrario, los antígenos independientes de células T pueden estimular directamente la producción de anticuerpos por parte de las células B.
11. **Antígenos Ly.** Grupo de marcadores de la superficie celular que poseen las células T murinas y que están relacionados con la diferenciación de las subpoblaciones de las células T. En la actualidad muchos se relacionan con el sistema CD.
12. **Antígenos Singénicos (Isólogos).** Genéticamente idénticos (gemelos univitelinos).
13. **Antígenos xenogénicos (heterólogos).**- Los que se encuentran en especies no relacionadas filogenéticamente.
14. **Autoanticuerpos.**- Son anticuerpos generados por un individuo dirigidos contra antígenos de los tejidos del propio individuo.
15. **Apoptosis.** Mecanismo de autodestrucción celular por fragmentación del DNA en segmentos de unos 200 pb, debido a endonucleasas dependientes de calcio activadas por estímulos exógenos.
16. **Célula accesoria.** Generalmente se utiliza para definir a los macrófagos y otras células presentadoras de antígenos.

17. **Célula inmunocompetente.** Poblaciones celulares que hacen posible la acción del sistema inmune: son los linfocitos T, B, células K, NK, macrófagos y polimorfonucleares.
18. **Célula K.** Célula responsable de la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo.
19. **Célula plasmática.** Célula B productora de anticuerpos que ha alcanzado su estado de máxima diferenciación.
20. **Células asesinas activadas por linfocinas (LAK).** Células citotóxicas generadas ex vivo, mediante la estimulación con IL-2 y posiblemente con otras citocinas.
21. **Células B.** Linfocitos que se desarrollan en la medula ósea de los adultos y producen anticuerpos.
22. **Células de Kupffer.** Células fagocíticas que recubren los sinusoides hepáticos.
23. **Células de Langerhans.** Células presentadoras de antígenos de la piel, que migran a los ganglios linfáticos y se transforman en células dendríticas; son muy activos en la presentación de antígenos a las células T.
24. **Donación voluntaria de sangre.-** es el acto por el cual una persona entrega de forma gratuita una parte de su sangre cumpliendo los siguientes criterios, solidarios, no dirigido, no remunerado, repetitivo
25. **Enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN).-** También llamada eritroblastosis fetal, es un trastorno sanguíneo en la que una madre produce anticuerpos durante el embarazo que atacan los glóbulos rojos de su propio feto, cuando la madre y el bebé tienen tipos de sangre diferentes.

26. **Glóbulo rojo.-** (Eritrocito o Hematíe).- Célula de la sangre cuya función es transportar el oxígeno desde los pulmones hasta las células de todos los tejidos corporales. Para ello utiliza una proteína llamada hemoglobina, que contiene hierro y transporta oxígeno.
27. **Glóbulos rojos lavados.-** Es la unidad de sangre desplasmatizada sometida a tres lavados sucesivos con solución salina fisiológica con el fin de reducir el plasma contaminante.
28. **Grupo sanguíneo.-** Es una clasificación de la sangre de acuerdo con las características presentes en la superficie de los glóbulos rojos y en el suero de la sangre. Las dos clasificaciones más importantes para describir grupos sanguíneos en humanos son los antígenos (el sistema ABO) y el factor Rh.
29. **Hematología.-** Es una ciencia que comprende el estudio de la etiología, diagnóstico, tratamiento, pronóstico y prevención de las enfermedades de la sangre y órganos hemolinfoprodutores. Los especialistas en este dominio son llamados hematólogos.
30. **Hemolisis.-** Destrucción (lisis) de la membrana eritrocitaria que libera el contenido hem y globina. Resulta de la reacción de un anticuerpo hemolítico y el antígeno eritrocitario, correspondiente en presencia del complemento.
31. **Hemoterapia.-** Es la parte de la medicina que se ocupa del tratamiento de diferentes cuadros clínicos mediante el empleo de sangre o sus derivados como medio terapéutico. Su objetivo principal es la obtención de productos sanguíneos para transfundirlos de manera segura, eficaz y eficiente
32. **IgD.** Inmunoglobulina cuyo significado fisiológico no se conoce. Su concentración sérica es muy pequeña aunque paradójicamente la mayoría de linfocitos B maduros coexpresan en su superficie IgM e IgD.

33. **IgE.** Inmunoglobulina involucrada en reacciones de hipersensibilidad inmediata con capacidad de unirse a basófilos y mastocitos a través de receptores de gran afinidad que estas células poseen para su extremo Fc.
34. **IgG.** Inmunoglobulina predominante en suero, en el espacio extravascular, en las secreciones internas y en la fase secundaria de la respuesta inmunitaria.
35. **IgM.** Inmunoglobulina más primitiva y la más frecuente durante la respuesta primaria caracterizada por ser un pentámero y por su gran peso molecular lo que origina su situación exclusivamente intravascular.
36. **Inmunología.-** Es una rama amplia de biología y de las ciencias biomédicas que se ocupa del estudio del sistema inmunitario, entendiéndose como tal al conjunto de órganos, tejidos y células que, en los vertebrados, tienen como función reconocer elementos ajenos dando una respuesta (respuesta inmunitaria).
37. **Leucemia linfocítica crónica (LLC).-** Es un cáncer de un tipo de glóbulos blancos llamados linfocitos. Estas células se encuentran en la médula ósea y otras partes del cuerpo. La médula ósea es el tejido suave en el centro de los huesos que ayuda a la formación de todas las células de la sangre.
38. **Macromolécula.-** Es una molécula muy grande creada comúnmente por la polimerización de subunidades más pequeñas (monómeros). Por lo general se componen de miles, o más, de átomos.
39. **Medicina Transfusional.-** Ciencia que tiene como objetivo la conservación y el restablecimiento de la salud apoyada en la terapéutica transfusional, una parte de la medicina que enseña el modo de tratar las enfermedades proporcionando los elementos sanguíneos celulares o plasmáticos que el enfermo requiera.

40. **Mononucleosis infecciosa.**- Es una enfermedad provocada por un virus de la familia de los Herpes conocido como virus de Epstein-Barr. La enfermedad se caracteriza por dolor de garganta, fiebre, linfadenopatía y una linfocitosis atípica.
41. **Lupus eritematoso sistémico.**- El lupus es una enfermedad crónica en la que el sistema inmunitario del paciente ataca a diferentes órganos y tejidos (puede afectar a la piel, las articulaciones, los riñones, los pulmones, el sistema nervioso, etc.) provocando daño e inflamación.
42. **Sangre.**- Es un tipo de tejido conjuntivo especializado. Proviene de la medula ósea, tiene una fase sólida (elementos formes que incluye a los glóbulos blancos, los glóbulos rojos y las plaquetas) y una fase líquida, representado por el plasma sanguíneo.
43. **Solución isotónica.**- Es aquella en la cual la concentración de soluto es igual fuera y dentro de una célula. En hematología, se dice de las soluciones que tienen la misma concentración de sales que las células de la sangre son isotónicas.
44. **Transfusión de sangre.**- Técnica que consiste en hacer pasar un líquido especialmente sangre o algunos de sus derivados de un donante a un receptor. La decisión de transfundir a un enfermo supone evaluar las necesidades del paciente y determinar cómo mejorarlas con componentes y fracciones sanguíneas.

2.4. Hipótesis y Variables.

2.4.1 Hipótesis.

Empleando el proceso de descarte se identificaron anticuerpos irregulares valorados con el panel de células cuando los resultados son positivos para más de un anticuerpo irregular.

2.4.2 Variables

Variable independiente.

Proceso de descarte

Variable dependiente.

Identificación de anticuerpos irregulares

2.5 Operacionalización de Variables

VARIABLE	CONCEPTO	CATEGORIA	INDICADORES	INSTRUMENTO
<p>Independiente:</p> <p>Proceso de descarte</p>	<p>Procedimiento empleado cuando en el panel de células reactivas del Coombs indirecto se aprecian más de un anticuerpo</p>	<p>Pruebas antiglobulínicas</p>	<p>Reacciones de hemaglutinación 4, 3, 2 y 1 cruz.</p>	<p>Observación y guía de observación</p>
<p>Dependiente:</p> <p>Identificación de anticuerpos irregulares</p>	<p>Inmunoglobulinas de importancia clínica que compromete a las reacciones hemolíticas por transfusiones de sangre o derivados.</p>	<p>Pruebas antiglobulínicas</p>	<p>Reacciones de hemaglutinación 4, 3, 2 y 1 cruz.</p>	<p>Observación y guía de observación</p>

CAPÍTULO III

3 Marco Metodológico

3.1 Método Científico

Se emplea el método científico en el desarrollo del proyecto de investigación, por ser un método sujeto a comprobaciones, basados en enunciados, principios y leyes, así como los principios de las pruebas o ensayos de laboratorios aplicados al proceso de control para prevenir las reacciones transfusionales.

Además se sustentara para el desarrollo de la teoría científica que sirvió de respaldo para los resultados de la investigación, para lo cual se utilizó los métodos de: inducción y deducción.

Método deductivo- inductivo: se emplea este método por ir en principio de hechos particulares a lo general, esto se explica por ir en principio a los ensayos de los resultados de cada caso estudiado y concluir con los resultados de compatibilidad para así prevenir reacciones transfusionales al identificar anticuerpos irregulares.

La aplicación del método analítico nos permitió analizar las muestras tanto del donador como del receptor de los componentes sanguíneos.

La utilización del método sintético nos permitió unificar todos los conceptos y los diversos elementos para formular una teoría.

3.2. Tipo de Investigación

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

Descriptiva Se describe los pasos a realizarse en el estudio de la sangre destinada a la transfusión y sus respectivos fenómenos de resultados, como de los pasos y procesos

para garantizar el éxito de la transfusión y como también de las precauciones a seguirse o aplicarse para reducción de los efectos adversos a la transfusión.

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 coombs indirecto y el proceso de descarte.

3.2.1 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 Inmunoematología del Servicio de Medicina Transfusional del Hospital Provincial General Docente de Riobamba, en el cual se maneja las muestras de sangre a analizarse.

3.3 Población y Muestra

3.3.1 Población

La presente investigación está constituida por el total de ensayos que se realizó durante el tiempo planteado en la investigación que es de 61 casos de pacientes atendidos por el servicio de medicina Transfusional del Hospital Provincial General Docente de Riobamba

3.3.2 Muestra

Se trabaja con el total de la población por ser una cantidad pequeña no se extrae muestra

3.4 Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos

3.4.1. Técnicas:

Observación de los distintos resultados obtenidos mediante la aplicación de la técnica de Coombs y el proceso de descarte.

Análisis documental de la información científica que nos ayudara al desarrollo del marco teórico y a realizar las tablas estadísticas de este trabajo.

Recopilación bibliográfica para ser pre analizado para dar conceptos específicos y claros.

Técnicas para la realización de las pruebas de laboratorio que no servirán como guía práctica y de control de calidad.

3.4.2. Instrumentos:

Guía de observación: resultados de las pruebas de tipificación de antígenos, anticuerpos y pruebas de compatibilidad del Servicio de Medicina Transfusional del Hospital General Docente Riobamba.

3.5 Análisis de resultados

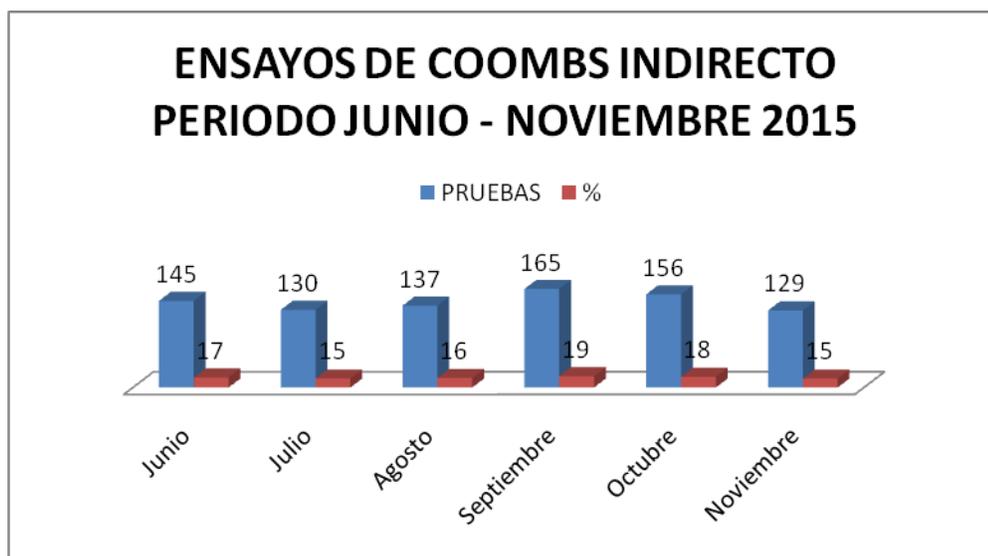
3.5.1 Ensayo de Coombs indirecto periodo junio- noviembre 2015

Tabla 8 Estadística de Ensayos de Coombs indirecto

MES	PRUEBAS	%
Junio	145	17
Julio	130	15
Agosto	137	16
Septiembre	165	19
Octubre	156	18
Noviembre	129	15
Total	862	100%

Fuente: Servicio de Medicina Transfusional – HPGDR
Diseño: Stalin Gualpa

Gráfico 17 Representación gráfica de la tabla 8



Fuente: Servicio de Medicina Transfusional – HPGDR
Diseño: Stalin Gualpa

Interpretación: Durante el periodo Junio a Noviembre año 2015 se registran 862 ensayos realizados por el servicio de Medicina Transfusional del Hospital Docente de Riobamba, de esta cantidad de ensayos 165 se analizaron en septiembre representados por un 19% y siendo el mes con más cantidad de pruebas, el mes de julio y noviembre

se realizaron 130 y 129 pruebas respectivamente siendo los meses con menos ensayos y representados con el 15%, se trabajará con los resultados positivos de coombs indirecto.

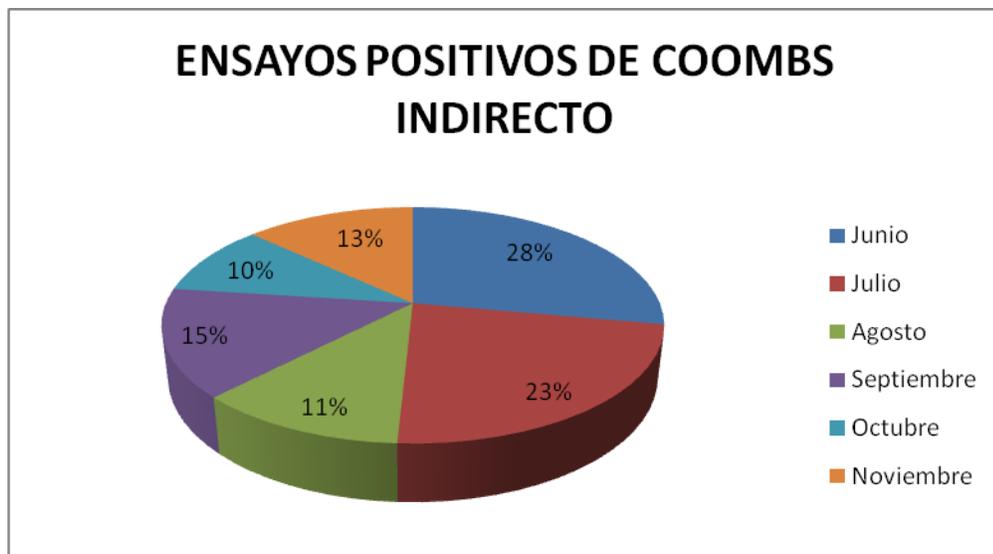
3.5.2 Ensayos, positivos de Coombs indirecto

Tabla 9 Ensayos, positivos de coombs indirecto

MES	PRUEBAS POSITIVAS	%
Junio	17	28
Julio	14	23
Agosto	7	11
Septiembre	9	15
Octubre	6	10
Noviembre	8	13
Total	61	100%

Fuente: Servicio de Medicina Transfusional – HPGDR
Diseño: Stalin Gualpa

Gráfico 18 Representación gráfica de la tabla 9



Fuente: Servicio de Medicina Transfusional – HPGDR
Diseño: Stalin Gualpa

Interpretación: Se efectuaron 61 ensayos positivos de coombs indirectos en los cuales se identifica el o los anticuerpos comprometidos en las reacciones, teniendo así mayor

cantidad de casos positivos en junio con 17 pruebas representadas por un 28% y los más bajos en octubre con 6 casos que representan el 10%, se procede a la realización del descarte el cual consiste en que ensayos negativos invalida a los resultados positivos de la plantilla.

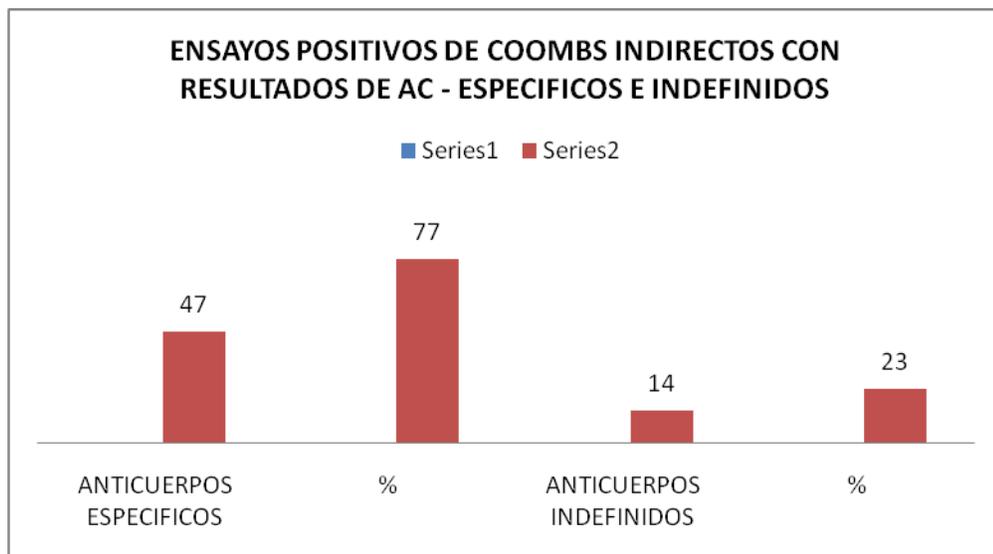
3.5.3 Ensayos positivos de coombs indirectos con resultados de anticuerpos específicos e indefinidos

Tabla 10 Ensayos positivos de coombs indirectos con resultados de anticuerpos específicos e indefinidos

ANTICUERPOS ESPECIFICOS	%	ANTICUERPOS INDEFINIDOS	%
47	77	14	23
Total 61			

Fuente: Servicio de Medicina Transfusional – HPGDR
Diseño: Stalin Gualpa

Gráfico 20 Representación gráfica de la tabla 11



Fuente: Servicio de Medicina Transfusional – HPGDR
Diseño: Stalin Gualpa

Interpretación: De los 61 ensayos positivos para coombs indirecto se registran 47 ensayos para reportes de anticuerpos específicos correspondiente al 77% de la población estudiada y 14 ensayos con reportes indefinidos para anticuerpos con relación porcentual

del 23%, a estos últimos se realiza la técnica de descarte para valorar el o los anticuerpos encontrados.

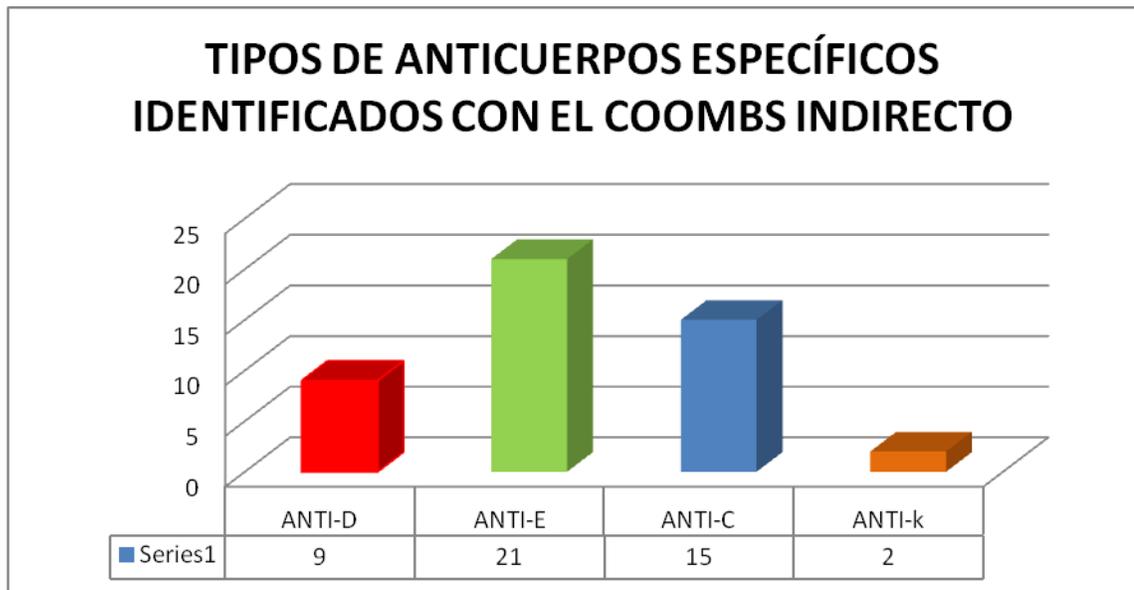
3.5.4 Tipos de anticuerpos específicos identificados con el coombs indirecto

Tabla 11 Tipos de anticuerpos específicos identificados con el coombs indirecto

ANTI-D		ANTI-E		ANTI-C		ANTI-k	
9	19%	21	45%	15	32%	2	4%
TOTAL 47							

Fuente: Servicio de Medicina Transfusional – HPGDR
Diseño: Stalin Gualpa

Gráfico. 19 Representación gráfica de la tabla 10



Fuente: Servicio de Medicina Transfusional – HPGDR
Diseño: Stalin Gualpa

Interpretación: De los 61 ensayos positivos 47 son identificados anticuerpos específicos valorados con la prueba de coombs indirecto, se encontraron para Anti-D, 9 para Anti-E, 21 para Anti-C 15 y para Anti-k 2.

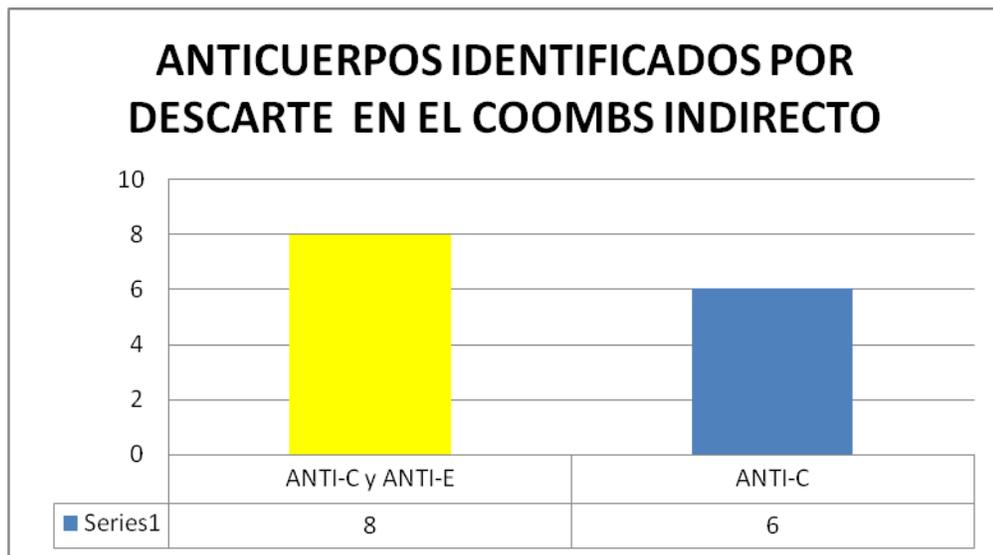
3.6 Comprobación de la Hipótesis

Tabla 12 Comprobación de la Hipótesis

ANTI-C y ANTI-E		ANTI-C	
8	57%	6	43%
TOTAL		14	

Fuente: Servicio de Medicina Transfusional – HPGDR
Diseño: Stalin Gualpa

Gráfico 20 Representación de la Comprobación de la Hipótesis



Fuente: Servicio de Medicina Transfusional – HPGDR
Diseño: Stalin Gualpa

Comprobación.- De los 14 ensayos con reportes indefinidos para anticuerpos con relación porcentual del 23% de la población, se aplica el proceso de descarte para valorar los anticuerpos encontrados y se registra 8 anticuerpos específicos ANTI-C y ANTI-E y 6 para ANTI-C.

CAPÍTULO IV

4. Conclusiones y Recomendaciones.

4.1 Conclusiones.

- Se identificaron anticuerpos irregulares mediante los ensayos de coombs indirectos; este es un proceso de vital importancia ya que ayuda asegurar in vitro e in vivo el proceso transfusional, previniendo las complicaciones asociadas a las transfusiones e incompatibilidades feto maternas en las que interactúan las inmunoglobulinas de tipo IgG.
- Al utilizar el panel de células o multipanel se determina la presencia de anticuerpos no aglutinantes en el suero o plasma de sujetos sensibilizados con uno o más antígenos, así no se deja pasar por alto la identificación de anticuerpos irregulares que genera altos riesgos de reacciones transfusionales sobre todo hemolíticas, el cual involucra complicaciones severas e irreversibles ocasionando en muchos de los casos la muerte.
- El emplear el proceso de descarte permite validar el ensayo de coombs indirecto positivo para interpretar las características en las que se desenvuelve la clínica del paciente, las exposiciones a estímulos por antígenos propios o extraños, posibles gestaciones o antecedentes transfusionales.

4.2 Recomendaciones

- Se recomienda en especial en las pruebas de coombs indirecto negativas el uso de las células control de coombs que son hematíes sensibilizadas con IgG humana y sirven como control de la prueba, estas valoran la actividad del suero antiglobulina y la calidad del lavado de las células

- A cada prueba de coombs indirecta positiva se debe aplicar la prueba de confirmación con el panel o multipanel de células para especificar el tipo de anticuerpo presente.
- Al reportar un coombs indirecto indeterminado se deberá aplicar el descarte así se logra identificar el o los anticuerpos presentes que generan problemas al reportarlos.

3.3 Bibliografía

ABBAS, A.K. (2012) Inmunología celular y molecular. 8va. Edición, España: Elsevier.

Clinical, A. A. (10 de 11 de 2012) Lab. Test online, Obtenido de Lab. Test on line.

DUEÑAS, V.H. (2003) Banco de Sangre, Cali Colombia.

FIORENTINO, Susana. (1995) La inmunología en el diagnóstico clínico. 2da Edición

GARIBAY, Adriana. (2006) Manual de practicas de inmunología, México: UniSon

GARCIA, Fernando. (1994) Fundamentos de inmunología, México. 1ra Edición

JARAMILLO, Fernando, La Terapia Transfusional y la Inmunohematología, guía práctica 2010.

JARAMILLO, F. (2012). Pruebas de Coombs. Riobamba, Chimborazo, Ecuador

JARAMILLO, F. (Compositor). (2015). Hemovigilancia en el HPGDR. Riobamba, Chimborazo, Ecuador.

LEÓN, P.H. (2002) Frecuencias de grupos sanguíneos e incompatibilidades ABO y RhD. México : Salud Pública de México

PARHAN, Peter. (2006) Inmunología. 2da. Edición, Buenos Aires: Médica Panamericana

RODRIGUEZ, A. N. (2006) Detección, análisis de grupos sanguíneos, Mexico : Medigraphic.

RODRIGUEZ, M. (2014). El Banco de Sangre y la Medicina Transfusional. México: Panamericana.

ROGEIRO, L.L. (1997) Inmunología, Patología del sistema Inmune, Segunda Edición, Madrid - España.

ROJAS, W. (2008) Inmunología. Colombia : 15 Edición, Corporación para la investigaciones Biológicas

ROJAS, Oscar. (2006) inmunología (de memoria). 3ra. Edición, México: Médica Panamericana

VILLINA, A. (1995) Inmunología. Madrid: Editorial Complutense

Lincografía

<http://www.microinmuno.qb.fcen.uba.ar/SeminarioInmunologia2.htm>.

<http://www.paralibros.com/passim/p20-tec/pb2001gsa.htm>.]

http://biologia42.rssing.com/chan-4253117/all_p4.html

<http://www.xatakaciencia.com/biologia/la-sangre-todo-lo-que-necesitas-saber-ii>

<http://www.medigraphic.com/pdfs/medlab/myl-2009/myl097-8c.pdf>

<http://bancodesangrejhs.blogspot.com/2011/03/los-grupos-sanguineos-abo-y-rh.html>

<http://es.scribd.com/doc/49671032/Sueros-humanos-para-identificar-grupos-ABO>

[ttp://www.grupomoscario.com/productos/banco%20de%20sangre/Tecnicas%20en%20tubo%20pruebas%20manuales/banco%20de%20sangre%20Tecnicas%20en%20tubo%20pruebas%20manuales-reactivos.htm](http://www.grupomoscario.com/productos/banco%20de%20sangre/Tecnicas%20en%20tubo%20pruebas%20manuales/banco%20de%20sangre%20Tecnicas%20en%20tubo%20pruebas%20manuales-reactivos.htm)

AneXOS

1	Rh-hr	Rh - hr						Kell						Duffy		Kidd		Lew is			P		MNS					Luth Xg			SALINA	LISS	COOMBS
		D	C	E	c	e	CW	K	k	Kpa	Kpb	Jsa	Jsb	Fya	Fyb	Jka	Jkb	Lea	Leb	P1	M	N	S	s	Lua	Lub	Xga						
I	CCCWD.ee	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	nt	nt	+	0	0	+	0	+	+	+	0	+	0	0	+	+	0	+	+	0	1	2
II	ccD,EE	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	nt	nt	+	0	0	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+
III	ccddee	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	nt	nt	0	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+

PANTALLAS POSITIVAS

Rh-hr	Rh - hr						Kell						Duffy		Kidd		Lew is			P		MNS					Luth Xg			SALINA	LISS	COOMBS
	D	C	E	c	e	CW	K	k	Kpa	Kpb	Jsa	Jsb	Fya	Fyb	Jka	Jkb	Lea	Leb	P1	M	N	S	s	Lua	Lub	Xga						
1	CCCWD.ee	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	nt	nt	+	0	+	+	0	+	+	+	0	+	+	+	0	+	+	1	+	+	+
2	CCD.ee	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	nt	nt	0	+	+	0	+	0	0	+	0	+	0	0	+	+	2	+	+	+	
3	ccD.EE	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	nt	nt	0	+	0	+	0	0	+	+	+	+	0	0	+	+	3	0	0	0	
4	Ccddee	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	nt	0	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	4	+	+	+	
5	ccddEe	0	0	+	+	+	0	0	+	0	+	nt	nt	+	0	+	0	0	+	0	+	+	+	+	0	+	+	5	0	0	0	
6	ccddee	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	nt	nt	+	0	0	+	0	+	+	+	0	+	0	+	0	6	+	+	+		
7	ccddee	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	nt	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	0	+	+	7	0	0	0		
8	ccD.ee	+	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	nt	0	0	+	0	0	0	+	+	0	+	0	+	+	8	0	0	0		
9	ccddee	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	nt	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	9	0	0	0		
10	ccddee	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	nt	+	0	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	10	0	0	0		
11	ccddee	0	0	0	+	+	0	0	+	+	+	nt	nt	0	+	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	11	0	0	0		

MULTIPANEL POSITIVO PARA ANTI-C

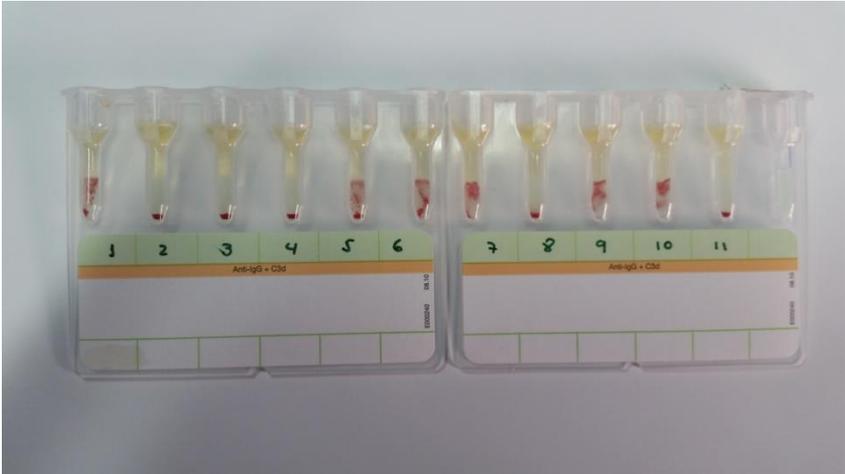
Rh-hr	Rh - hr						Kell						Duffy		Kidd		Lewis		P	MNS					Luth Xg			SALINA	LISS	COOMBS
	D	C	E	c	e	CW	K	k	Kpa	Kpb	Jsa	Jsb	Fya	Fyb	Jka	Jkb	Lea	Leb	P1	M	N	S	s	Lua	Lub	Xga				
1 CCCWD.ee	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	nt	nt	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	1	+	+	+	
2 CCD.ee	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	nt	nt	0	+	+	0	+	0	0	+	0	+	0	0	+	2	+	+	+	
3 ccD.EE	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	nt	nt	0	+	0	+	0	0	+	+	+	+	0	0	+	3	0	0	0	
4 Ccddee	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	nt	0	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	4	+	+	+	
5 ccddEe	0	0	+	+	+	0	0	+	0	+	nt	nt	+	0	+	0	0	+	0	+	+	+	+	0	+	5	+	+	+	
6 ccddee	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	nt	nt	+	0	0	+	0	+	+	+	+	0	+	0	+	6	0	0	0	
7 ccddee	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	nt	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	0	+	7	0	0	0	
8 ccD.ee	+	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	nt	0	0	+	0	0	0	+	+	+	0	+	0	+	8	0	0	0	
9 ccddee	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	nt	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	9	0	0	0	
10 ccddee	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	nt	nt	+	0	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	10	0	0	0	
11 ccddee	0	0	0	+	+	0	0	+	+	+	nt	nt	0	+	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	11	0	0	0	

DESCARTE ANTI- C

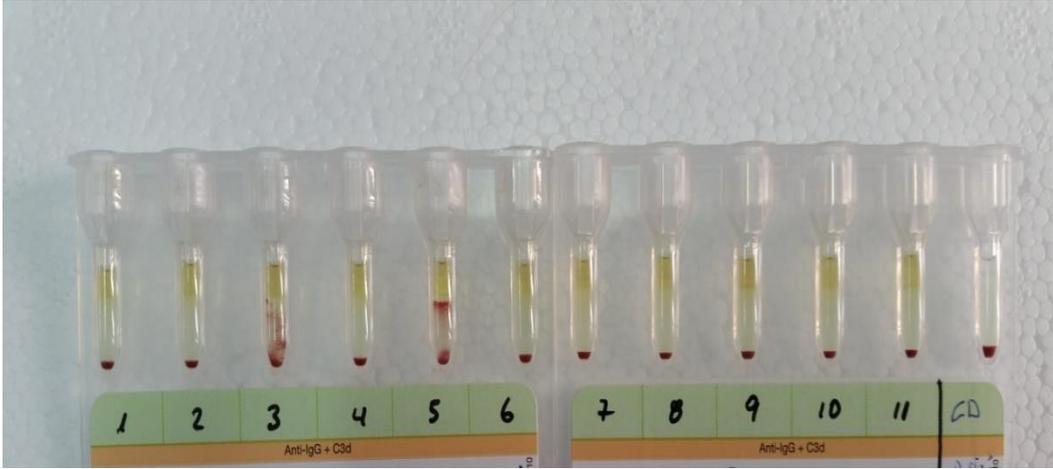
Pantallas Positiva



Multipanel Positivo



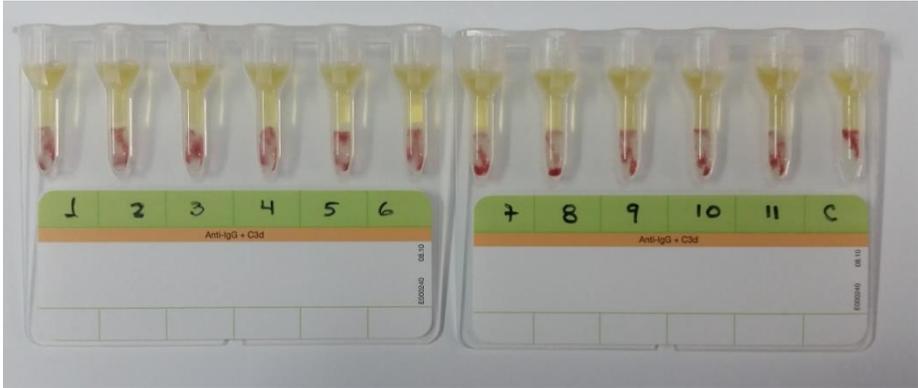
Multipanel Positivo



Pantallas Positivas



Pantallas Positivas



Pantallas I-II-III



Multipanel de Celulas

