

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA, MANAGUA
INSTITUTO POLITÉCNICO DE LA SALUD
“LUIS FELIPE MONCADA”
UNAN – MANAGUA



Departamento de Bioanálisis Clínico

Monografía para optar al Título de Licenciatura en Bioanálisis Clínico

Tema:

**COMPARACIÓN DE LA TÉCNICA DE AGLUTINACIÓN EN TUBO CON
LA TÉCNICA DE MICRO TIPIFICACIÓN EN GEL PARA LA
DETERMINACIÓN DE LOS GRUPOS SANGUÍNEOS ABO Y RHESUS DE
PACIENTES ATENDIDOS EN EL HOSPITAL SOLIDARIDAD EN EL
PERIODO DE JULIO – NOVIEMBRE 2014.**

Autoras:

-  Bra. Andrea Yurielka Centeno Centeno
-  Bra. Janeyris del Carmen Jiménez Lira
-  Bra. Cirley Anabell Martínez Palma

Tutora:

-  María Elena Dávila Narváez
Lic. Bioanálisis Clínico
Msc. Epidemiología

Asesora:

-  Daniela Magaly Ruíz Saldívar.
Lic. Bioanálisis Clínico

Managua, Nicaragua. Marzo 27 del 2015

ÍNDICE

Dedicatoria.....	<i>i</i>
Agradecimiento.....	<i>ii</i>
Valoración del Especialista.....	<i>iii</i>
Resumen.....	<i>iv</i>
Capítulo	Página
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES.....	3
III. JUSTIFICACIÓN.....	6
IV. PLANTAMIENTO DEL PROBLEMA.....	7
V. OBJETIVOS.....	8
VI. MARCO TEÓRICO.....	9
6.1 Sistemas de Grupos Sanguíneos.....	9
6.2 Sistema ABO.....	12
6.3 Sistema de Grupos Sanguíneos Rhesus.....	18
6.4 Determinación de Grupos Sanguíneos.....	23
6.5 Errores en la determinación de Grupos Sanguíneos.....	33
6.6 Importancia Clínica del sistema sanguíneo ABO/Rhesus.....	38
VII. DISEÑO METODOLOGICO.....	40
VIII. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....	49
IX. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.....	50
X. CONCLUSIONES.....	58
XI. RECOMENDACIONES.....	59
XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60
XIII. ANEXOS.....	62

DEDICATORIA

A **Dios** nuestro Padre Celestial por habernos dado el privilegio de la vida, el conocimiento y la sabiduría, de ponernos en el camino y así plantearnos metas y proyectos para el bienestar de nuestras vidas, familia y sociedad.

A nuestros queridísimos **Padres** y **Madres** por habernos concebido, dándonos la vida y brindarnos todo su amor y apoyo incondicional todo el tiempo. Por darnos ese aporte invaluable en todos los ámbitos y necesidades que se nos llegaron a presentar en este largo camino para poder llegar a alcanzar nuestros sueños y metas.

A nuestros **Profesores** por habernos transmitido la sabiduría y conocimiento, brindándonos su apoyo incondicional en todo momento y así prepararnos académicamente incluyendo principios morales y éticos, ya que estos son pilares para ser mejores profesionales y personas cada día de nuestras vidas. También por inspirarnos a continuar nuestro espíritu de superación para poder alcanzar nuestros propósitos y metas.

Andrea Yurielka, Janeyris del Carmen y Cirley Anabell.

AGRADECIMIENTO

A nuestro **Padre celestial**, por darnos la vida y permitirnos llegar al lugar donde estamos hoy en día y culminar nuestros estudios.

A nuestros **Padres y Hermanos (as)**, que en todo momento nos brindaron aliento de fe para seguir adelante con nuestros estudios y metas, por todo su apoyo y por ser una fuente de inspiración para cada una de nosotras.

A nuestros **Docentes** y al Centro formador POLISAL-UNAN-MANAGUA, que nos aportaron sus conocimientos y destrezas como docentes y seres humanos que nos forjaron cada día para que siguiéramos adelante con nuestras metas, por la gran paciencia que nos tenían a cada uno de nosotros.

A nuestra **Tutora** la Msc. María Elena Dávila y nuestra **Asesora** Lic. Magaly Ruiz Saldívar por la dedicación, aporte y sugerencias, así mismo porque nos aportaron sus conocimientos y principios morales para la elaboración y culminación de nuestro estudio

Al **Personal** del Hospital Solidaridad por habernos permitido realizar nuestro estudio y brindarnos toda la información necesaria para la elaboración de este estudio.

VALORACION DEL ESPECIALISTA

La Medicina Transfusional, es una de las especialidades médicas que ha tenido un gran avance en estos últimos años, tanto en conocimientos logrados y en tecnologías modernas empleadas para este nuevo milenio. Ésta ha evolucionado acorde con el progreso de las ciencias médicas y de la tecnología aplicada, por lo que es imprescindible conocer los adelantos técnicos en cuanto a metodologías y equipos empleados en los Servicios Transfusionales para ser utilizados correctamente.

Con el presente trabajo las autoras expondrán una información actualizada que enriquecerá el acervo bibliográfico sobre el tema presentando en relación a los métodos que se utilizan para la Tipificación de grupos sanguíneos ABO y Rhesus, la comparación de dos técnicas utilizadas correctamente para la clasificación de grupos sanguíneos de importancia clínica en la terapéutica transfusional cuyo propósito es garantizar que la transfusión cumpla con sus objetivos terapéuticos para mantener o salvar vidas.

Por lo cual considero que el trabajo monográfico con el Tema: ***“Comparación de la Técnica de Aglutinación en Tubo con la Técnica de Microtipificación en Gel para la determinación de los grupos sanguíneos ABO y Rhesus de pacientes atendidos en el Hospital Solidaridad en el periodo de Julio – Noviembre 2014.”***, reúne todos los requerimientos científicos y metodológicos para ser presentado y defendido por sus autoras.

Msc. Ma. Elena Dávila Narváez
Tutora y Asesora
Docente Dpto. Bioanálisis Clínico
POLISAL-UNAN-Managua

RESUMEN

El presente estudio correspondió a un estudio descriptivo de corte transversal, con el objetivo de comparar las técnicas de micro tipificación en gel con la técnica de aglutinación en tubo para la determinación de los sistemas sanguíneos ABO y Rhesus de los pacientes atendidos en el Hospital Solidaridad, en el periodo de Junio – Noviembre 2014. El universo y la muestra lo constituyeron el total de 100 personas, que correspondió al 100 % de los pacientes en estudio. Para la recolección de la información se utilizaron fichas de recolección de datos y una hoja de resultados diseñadas por las investigadoras en las cuales se integraron las variables del estudio. Los resultados obtenidos fueron: En relación al sexo, el femenino fue el de mayor frecuencia con 83%, y el masculino el de menor frecuencia con 17%. El grupo etario de mayor frecuencia fueron las edades comprendidas entre 25–34 años con 38% y 15-24 años con 32%, las edades de menor frecuencia fueron las de 65 – 74 años con el 2%. La frecuencia de grupos sanguíneos ABO y Rh (D) fue la siguiente: O positivo con 70%, A positivo 17%, B positivo 5%, O negativo 3%, AB positivo 2% y A negativo, B negativo, AB negativo con el 1% cada uno respectivamente. La correlación de las pruebas utilizadas en la determinación de los sistemas ABO y Rhesus fue excelente, debido a que en ambas técnicas se logró obtener los mismos resultados. Las recomendaciones fueron: A los técnicos cumplir obligatoriamente con el protocolo de trabajo que va desde la identificación de la muestra y datos del paciente hasta transcribir los resultados al libro de registro de bancos de sangre para la entregar resultados. Tener todas los reactivos y tarjetas para realizar todas las pruebas al momento de encontrar una discrepancia ya sea en adultos o bebés. Realizar lavados correspondientes en casos de trabajar con recién nacidos y bebé a los cuales solo se le realiza la prueba directa no pudiéndola correlacionar con la prueba inversa. Al responsable del área de Inmunohematología se recomienda manejar el manual de procedimientos técnicos en caso de no tener un reactivo comercial.

I. INTRODUCCIÓN

El hombre ha intentado ayudar a sus semejantes a través de la administración de sangre, existen datos registrados desde la época de los egipcios, griegos y romanos, desde la administración de transfusiones con sangre de animales hasta beber la sangre de fuertes guerreros.

La falta de conocimientos sobre los subgrupos sanguíneos lleva consigo riesgos para la salud como en las transfusiones de sangre entre los grupos incompatibles provocando reacciones inmunológicas que pueden con llevar a una hemolisis, fallo Renal, Shock e incluso la muerte.

El estudio de los grupos sanguíneos ha contribuido al conocimiento de los diferentes antígenos eritrocitarios que cada individuo posee y por su número existen hasta el día de hoy alrededor de 27 sistemas antigénicos conocidos y a un siglo de que Landsteiner los descubriera siguen siendo de gran interés práctico y conceptual.

Los sistemas antigénicos considerados de mayor importancia son el ABO y Rhesus. La distribución de estos grupos sanguíneos en la población humana no es uniforme ya que hay variaciones de la distribución en las distintas subpoblaciones humanas, siendo el más común el O positivo, mientras que el más escaso es AB negativo.

Su estudio es a escala mundial, no obstante en Nicaragua datos obtenidos en relación a la frecuencia de los grupos ABO y Rhesus correspondiente a estudios de prevalencia de grupos sanguíneos en el Centro Nacional de Sangre Cruz Roja Nicaragüense indican que los grupos O positivos y A positivos son los de mayor frecuencia y el AB negativo el de menor frecuencia.

Sin embargo, en el Hospital Solidaridad aunque se realizan tipificaciones y transfusiones sanguíneas los resultados obtenidos en las pruebas se plasman en libros de registros y base de datos del programa Omega, no se encontraron estudios que reflejen de forma actualizada la frecuencia de los grupos ABO y Rh de las personas que son atendidas en este Hospital que sirvan como referencia y de utilidad en la Medicina transfusional.

El área de Inmunohematología del Banco de sangre, es la responsable de la determinación de los fenotipos eritrocitarios para los principales sistemas sanguíneos (ABO y Rh), y de establecer su relación con los anticuerpos específicos, mediante la realización de prueba sérica para ABO y rastreo e identificación de anticuerpos irregulares frente a antígenos de sistemas sanguíneos diferente a este.

Para estas determinaciones se han empleado tradicionalmente métodos en portaobjetos, tubo y en años más recientes pruebas en gel o micro columnas así como en micro placa; en estos últimos permiten la automatización de los procedimientos con el fin de asegurar la calidad de los resultados obtenidos en cada una de las pruebas.

La metodología de estudio ha sufrido transformaciones actualmente con el empleo de las tarjetas con columnas en gel; ya sea por gradiente de peso o por intercambio de cargas , que es también empleada para la realización de las pruebas de compatibilidad, que son realizadas para; procurar que el paciente reciba el máximo beneficio de la transfusión, prevenir una reacción hemolítica transfusional, detectar anticuerpos irregulares en el suero del receptor contra glóbulos rojos del donante, en la prueba mayor y para detectar anticuerpos en el suero del donante contra glóbulos rojos del receptor en la prueba menor; detectar errores en la determinación del sistema ABO y detectar errores en la identificación de las muestras de donantes y receptores.

II. ANTECEDENTES

En el año de 1900 se llevó a cabo el descubrimiento del sistema ABO a través de los experimentos de Karl Landsteiner; para 1927 se realizó el descubrimiento de los sistemas MN y P a través de experimentos con animales; en 1940 Landsteiner, Levine y Stetson encontraron el sistema Rh-Hr en su famoso estudio obstétrico y en esta tónica de investigaciones siguieron los descubrimientos de los sistemas de grupos sanguíneos y su estudio, así en 1944 a través de la técnica de bloqueo de anticuerpos fueron encontrados los llamados anticuerpos incompletos sensibilizantes que se estudiaron con más amplitud en 1945 gracias al empleo de Albumina bovina.

Para el fin de ese mismo año se comenzaron a emplear la técnica de antiglobulina humana directa (Coombs), y algunas enzimas proteolíticas que dieron lugar al descubrimiento de sistemas como Kell y Lewis en 1946, Duffy en 1950 y Kidd en 1951. Conforme se avanzó el uso de diversas técnicas se fueron encontrando cada vez más sistemas y en 1980 la Sociedad Internacional de Transfusión Sanguínea (ISBT) por sus siglas en inglés, formó la asociación en la terminología de los antígenos de superficie de las Células Rojas para unificar la nomenclatura.

El sistema de grupo sanguíneo ABO sigue siendo el más significativo en la medicina transfusional. Está determinado por sus respectivos antígenos en los glóbulos rojos y anticuerpos en el plasma o suero, este grupo está determinado genéticamente por tres genes alelos: el A, el B, y el O. Los dos primeros dan lugar a antígenos característicos para cada uno de ellos, mientras que el gen O no codifica para ningún antígeno conocido.

El sistema Rh es el segundo sistema más importante de grupos sanguíneos en la transfusión de sangre humana, actualmente se han descubierto 56 antígenos. El nombre del sistema Rh deriva de las reacciones del suero de conejo anti-mono

Rhesus con células rojas humanas, las que reaccionaban fueron llamadas Rh positivas y las no reactantes Rh negativas. El antígeno Rh, considerado común al mono Rhesus y a células humanas corresponde al antígeno D en la nomenclatura CDE.

Si bien, los grupos sanguíneos ABO y Rhesus son los de mayor importancia clínica por lo que se han investigado en poblaciones diferentes del mundo incluyendo grupos indígenas. El descubrimiento de otros grupos sanguíneos y la variedad de antígenos presentes en los diferentes sistemas antigénicos eritrocitarios, ha hecho necesario el empleo de técnicas cada vez más sofisticadas para la detección de los anticuerpos que se producen posteriores a una transfusión, durante el embarazo y en algunos estados patológicos.

Para estas detecciones se han desarrollado diferentes métodos en los cuales se busca asegurar la calidad óptima en las determinaciones de los grupos sanguíneos, uno de los métodos utilizados inicialmente fue el Método de Aglutinación en Lámina, el cual en la actualidad en algunos Bancos de Sangre solo se utiliza de forma preliminar, debido a las desventajas que este presenta ante reacciones débiles y problemas de discrepancias. El método en tubo es el más utilizado hasta hoy en la rutina de los servicios de sangre, ya que permite reducir los errores que se presentaban con el método anterior.

El ser humano siempre ha buscado la manera de mejorar cada día el trabajo de laboratorio, lo cual ha impulsado la automatización incluyendo este avance tecnológico en el área inmunohematológica. El primer método semi automatizado llamado Método en Micro Columnas fue desarrollado en 1984 por el Dr. Yves LaPierre. En 1988, LaPierre se une a DiaMed A.G para la producción y comercialización en Europa y en 1944 Micro Typing Systems (afiliado a DiaMed) en EE.UU recibe licencia de la FDA para la producción y distribución del producto.

En Nicaragua en el año 2008, se comenzó a utilizar el método de Microtipificación en Gel en el Centro Nacional de Sangre Cruz Roja Nicaragüense, sin embargo, debido al costo que este presenta se suspendió su uso en el año 2011. En el año 2009, el Hospital Salud Integral y el Hospital Metropolitano Vivian Pellas empezaron a utilizar ese mismo método para la tipificación sanguínea. Otro centro que inició la aplicación del método en el año 2012, fue el Hospital Solidaridad. No obstante la implementación de este método, hasta el momento no se ha realizado estudios sobre el procedimiento de la técnica automatizada o comparaciones de los métodos empleados en el Banco de Sangre y Unidades de Servicios Transfusionales.

III. JUSTIFICACIÓN

Es importante la realización de este trabajo ya que no existe un estudio documentado en Nicaragua sobre el tópico abordado que pretenda establecer comparaciones entre las técnicas de tipificación sanguínea que se utilizan en la rutina del Banco de Sangre y los Servicios Transfusionales.

Las técnicas utilizadas para la determinación de los grupos sanguíneos no implican solamente seguir los procesos a cabalidad, sino también el conocimiento y las destrezas de las personas implicadas en la ejecución, procesamiento e interpretación de cada procedimiento, razón por la cual mediante esta investigación las investigadoras tienen la oportunidad de adquirir conocimientos nuevos y reducir errores en el trabajo de laboratorio utilizando adecuados controles de calidad, que permitan entregar resultados veraces.

Esta investigación es un aporte a la sociedad ya que permite conocer los grupos y subgrupos sanguíneos de los pacientes del Hospital Solidaridad, además de ser un aporte para valorar la utilidad de las técnicas que proporcionan un apoyo diagnóstico en la tipificación de los grupos sanguíneos.

Además, con este estudio se persigue algo novedoso con una nueva perspectiva para ejercer el conocimiento académico adquirido para que la información documentada científicamente, sirva como acervo bibliográfico, a los estudiantes de la carrera de Bioanálisis Clínico y todas aquellas personas interesadas en el tema. También servirá de control para la institución hospitalaria que garantizará un servicio de calidad para beneficio de los pacientes proporcionándoles resultados fidedignos y confiables.

IV. PLANTAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Existe diferencia entre la Técnica de Aglutinación en Tubo con la Técnica de Micro tipificación en Gel para la determinación de los grupos Sanguíneos ABO y Rhesus?

- 1- ¿Cuáles son las características según Sexo y Edad de los pacientes en estudio?
- 2- ¿Cuál es la frecuencia de los grupos Sanguíneos ABO y Rhesus en los pacientes atendidos en el Hospital Solidaridad?
- 3- ¿Qué comparación existe entre los Resultados obtenidos de la Técnica de Aglutinación en Tubo con la técnica de Micro Tipificación en Gel?

V. OBJETIVOS

Objetivo General:

Comparar la Técnica de Aglutinación en Tubo con la Técnica de Micro tipificación en Gel para la determinación de los grupos Sanguíneos ABO y Rhesus de pacientes atendidos en el Hospital Solidaridad en el periodo de Julio – Noviembre 2014.

Objetivo Específicos:

1. Caracterizar según edad y sexo a los pacientes en estudio.
2. Determinar la frecuencia de grupos sanguíneos ABO y Rhesus de los pacientes atendidos en el Hospital Solidaridad.
3. Comparar los resultados obtenidos de la Técnica de Aglutinación en Tubo con la Técnica de Micro tipificación en Gel.

VI. MARCO TEORICO

6.1. Sistema de Grupos Sanguíneos

Los sistemas sanguíneos se clasifican normalmente en dos categorías: 1. mayor: Son aquellos grupos inmunológicamente numerosos poderosos (A, B, O y Rhesus) y 2: menor: Son aquellos grupos inmunológicamente débil, aunque también pueden provocar reacciones inmunológicamente severas: MNS, Lewis, Duffy, Kell, Lutheran, Kidd, Diego y Xg. (Salvatierra V., 2009).

El sistema ABO se descubrió cuando Lansdsteiner registro aglutinación de glóbulos rojos humanos por sueros de otros individuos en 1900 y en el año siguiente clasificó los tipo de sangre en tres grupos, ahora denominados A, B, y O. descubrió que el suero de individuos del grupo A aglutinaba los glóbulos rojos de individuos del grupo B, y a la inversa, que el suero de individuo del grupo B aglutinaban con glóbulos rojos del grupo A. de esta manera, A y B fueron los primeros antígenos en descubrirse.

Los glóbulos rojos que no se aglutinaron con el suero de individuos del grupo A o B luego se determinaron como grupo: El suero de individuo del grupo O aglutinaban los glóbulos rojos tanto de los individuos del grupo A como los del grupo B. En 1902 los discípulos de Lansdsteiner, Von de Castello y Sturli identificaron el cuarto grupo, AB.

6.1.2. Aspectos históricos de los sistemas sanguíneos

La posibilidad de transfundir sangre de un individuo a otro, quizás fue seriamente discutida por primera vez en la primera mitad del siglo XVII, aunque ya desde un tiempo más antiguo se había pensado en los poderes vitales de la sangre y en su capacidad rejuvenecedora. Dice la historia, por ejemplo, que los egipcios tomaban baños de sangre y algunas enfermedades se trataban con la ingestión de sangre de animales.

La era fisiológica de la historia de la transfusión sanguínea comenzó con el descubrimiento de la circulación de la sangre por Harvey en 1616.

Los primeros experimentos fueron hechos con transfusiones homólogas entre animales y en 1667 se efectuó la primera transfusión en un humano al cual se le inyectaron 9 onzas de sangre de carnero. Después de los primeros accidentes y del descrédito del procedimiento, hubo un receso de casi 150 años en que no hubo ningún avance en la transfusión de sangre. En 1818 James Blundell, obstetra y fisiólogo inglés, hizo la primera transfusión de hombre a hombre y para 1875 ya se habían hecho unas 350 transfusiones en humanos (*Grispam, 1983.*)

En 1899 Shattock informo sobre la aglutinación de los eritrocitos de algunas personas con el suero de otras e interpreto este fenómeno como anormal, fue Karl Landesteiner quien descubrió las diferencias de la sangre entre grupos de persona y con su teoría sobre la especificad de las reacciones serologías en 1900 dio inicio a la era inmunología de la historia de las transfusiones sanguíneas.

Karl Landesteiner, médico austriaco, enseñaba entonces anatomía patológica en la Universidad de Viena. Uno de sus campos de investigación fue la genética de la sangre humana que comparó con la de los simios. Landesteiner observo que al mezclar la sangre de dos personas había ocasiones en que los glóbulos rojos se aglutinaban formando grumos visibles.

Analizó la sangre de un total de 22 personas, incluyendo la suya y la de cinco colaboradores de su laboratorio, para lo cual procedía a separar el suero de la sangre total, lavaba después los glóbulos rojos y los sumergía en una solución de suero salino fisiológico. A continuación ensayaba cada suero con los diferentes glóbulos rojos obtenidos y finalmente tabulaba los resultados.

Llegó así a descubrir tres tipos distintos de hematíes, denominados A, B y O, que daban lugar a reacciones de aglutinación. Estos hallazgos los realizó en Viena hacia 1901. Dos años más tarde, dos discípulos suyos, Alfredo de Castello y Adriano Sturli, analizando 155 muestras (de 121 pacientes y 34 controles sanos), descubren un cuarto grupo, al que llaman AB, sin poder aglutinante (*Grispan, 1983*).

6.1.3. Herencia de los Grupos Sanguíneos

Los grupos sanguíneos se heredan según las leyes o principios genéticos expuestos por Mendel en 1865. Para entender mejor la herencia de los grupos sanguíneos, es necesario saber aspecto básico sobre genética humana. El cuerpo humano está formado por dos tipos de células.

1. Células somáticas que forman los diferentes tejidos.
2. Células germinales que producen los gametos (espermatozoides y óvulos).

En el hombre cada célula somática está formada por 46 cromosomas y agrupadas en 23 parejas. Las células germinales solo contienen 23 cromosomas, es decir, la mitad. En el proceso de fertilización, los dos gametos se encuentran y se combinan para constituir 23 pares de cromosomas. De esta manera, cada padre contribuye con la mitad de sus cromosomas, los cuales transportan los genes que a su vez determinarían las características individuales de los hijos.

De estos 23 pares de cromosomas, 22 son iguales u homólogos, pero una pareja es diferente y es la que determina el sexo. En la mujer un cromosoma X, se aparea con otro cromosoma X y determina el sexo femenino, en el hombre un cromosoma X, se aparea con uno más pequeño que se denomina Y, y determina el carácter masculino. Las 22 parejas de cromosomas regulares u homólogos son denominados autosomas, mientras que el X y Y son llamados cromosomas sexuales.

Los cromosomas están localizados en el núcleo de cada célula y transportan las unidades básicas de la herencia, que son los genes, las cuales están constituidas por moléculas de ADN.

Cada gen determina una característica específica y ocupa en el cromosoma un lugar fijo denominado locus. Un par de cromosoma tiene el mismo grupo de genes en el locus, en igual orden; de esta manera la célula hija tiene un par de genes provenientes, cada uno de un padre. Un locus cromosoma controla una característica hereditaria.

Cuando un individuo hereda dos genes idénticos situados en un locus determinado, por ejemplo un gen A de cada padre, se dice que el individuo es homocigoto para ese gen. Pero si tiene genes desiguales en la misma posición como A y B se denomina heterocigoto.

Los términos fenotipo y genotipo son de uso común. El fenotipo expresa el carácter visible de una persona. El genotipo expresa la constitución genética de un individuo con respecto a un determinado rasgo (*Dávila, Ma. E; 2013*).

6.2. Sistema ABO

El sistema ABO, fue el primer grupo sanguíneo descubierto por Karl Landesteiner quien registro la aglutinación de los glóbulos rojos humanos por sueros de otros individuos en 1900. Y en el año siguiente clasifico los tipos de sangre en tres grupos ahora denominados A, B y O.

Landsteiner demostró que los glóbulos rojos contenían por lo menos dos factores, designados como aglutinógenos A y B, con los cuales se podía explicar los cuatro grupos que existían y así postuló que cada persona podía tener uno de ellos (A o B), ambos (AB) o ninguno (O).

Descubrió que el suero de individuos del grupo A aglutinaba los glóbulos rojos de individuos del grupo B y a la inversa, que el suero de individuos de grupo B aglutinaba glóbulos rojos del grupo A. De esta manera A y B fueron los primeros antígenos que se descubrieron.

Los Glóbulos rojos que no se aglutinaron con el suero de individuos del grupo A o B, luego se determina como grupo O, el suero de individuos del grupo O aglutinaban los glóbulos rojos tanto de los individuos del grupo A como del grupo B.

El sistema de grupo sanguíneos ABO sigue siendo el más significativo en medicina transfusional. Es el único en el cual la mayoría de las personas no expuestas a eritrocitos humanos posee anticuerpos recíprocos constante y previsible. A causa de estos anticuerpos, la transfusión de sangre ABO incompatible puede provocar hemólisis intravascular grave, así como también las otras manifestaciones de las reacciones hemolíticas transfusionales agudas. Las pruebas de detección de la incompatibilidad ABO entre los receptores y donantes constituyen la base de los estudios pretransfusionales (*AABB, 2007*).

6.2.1. Herencia del Sistema A B y O

La herencia en el sistema ABO es controlada de acuerdo a las leyes de Mendel y se hace mediante cuatro genes comunes. A₁, A₂, B y O. Los antígenos de los grupos sanguíneos son la expresión transmitidos por uno u otro de los padres.

Los genes del sistema ABO están presentes sobre el cromosoma 9. La expresión del fenotipo de los genes A y B disimula la del gen O, de manera que un fenotipo A o B puede corresponder a más de un genotipo o sea, los genes A y B son codominantes y ambos son dominantes con respecto al gen O, que es recesivo. Si en los eritrocitos son del grupo A, esto nos indica que si en el cromosoma del eritroblasto hay dos genes A (AA), o un gen A asociado a un gen O (AO). Lo

mismo pasa con el grupo B, en consecuencia, una persona del grupo A o B puede ser homocigota o heterocigoto.

Por el contrario, los fenotipos O y AB expresan directamente el genotipo. En realidad una persona del grupo O es homocigota OO y una persona AB es heterocigoto porque posee los dos genes A y B en sus hematíes. El gen O es amorfo, es decir, no produce antígenos detectables. Cuando el antígeno O es heredado en conjunto con el A, solo el A se manifiesta y reacciona ante el suero anti-A en la misma forma en lo que lo puede hacer el AA. De igual manera se comporta cuando se hereda el antígeno B.

6.2.2. Antígenos del Sistema ABO

Dos antígenos tipos A y B aparecen en las superficies de los eritrocitos en una gran proporción de los seres humanos. Con menor frecuencias los anticuerpos reaccionan menos con los recién nacidos que con los adultos. Aunque pueden encontrarse en los glóbulos rojos de embriones de 5 – 6 semanas en el momento del nacimiento los antígenos A y B no están desarrollados por completo, quizás porque las estructuras oligosacáridos ramificadas surgen de manera gradual. A los 2-4 años, la expresión de los antígenos A y B es completa y permanece más o menos constante durante toda la vida (*AABB, 2007*).

Grupo A: En la membrana plasmática de los glóbulos rojos posee aglutinógenos A y en el plasma, aglutininas anti B (contra el aglutinógeno B).

Grupo B: Con aglutinógenos B en los eritrocitos y aglutininas anti A (contra el aglutinógeno A) en el plasma sanguíneo.

Grupo O: Este grupo carece de aglutinógenos en la superficie de sus eritrocitos y en el plasma contiene dos tipos de aglutininas, las anti A y las anti B (contra ambos tipos de aglutinógenos).

Grupo AB: A diferencia del grupo O, el grupo AB posee los dos aglutinógenos A y B en las membranas plasmáticas de los glóbulos rojos, pero carece de aglutininas plasmáticas.

6.2.3. Subgrupos

Los subgrupos ABO son fenotipos que difieren en la concentración de antígenos en los glóbulos rojos y la saliva de los secretores como antígenos solubles. Los subgrupos A son más comunes que los B, los dos principales subgrupos A son los A₁ y A₂. Los glóbulos rojos de las personas de ambos subgrupos reaccionan fuertemente con el reactivo anti- A en la prueba de aglutinación directa. La distinción serológica de las células A₁ y A₂ se logra mediante pruebas que utilizan lectina anti- A₁.

Existen diferencias cualitativas y cuantitativas entre A₁ y A₂. La transferasa A₁ es más eficiente en la conversión de la sustancia H en antígeno A y puede crear estructuras tipo 3 A repetitivas. El 80% de los individuos del grupo A o AB posee glóbulos rojos que aglutinan en presencia de anti - A₁ y por tanto se clasifica como A₁ o A₁B. El 20% restante, cuyos eritrocitos son fuertemente aglutinados en presencia anti-A, pero no de anti-A₁ se clasifica como A₂ o A₂B (AABB, 2007).

6.2.4. Anticuerpos Sanguíneos

Generalmente, las personas tienen anticuerpos contra el antígeno A o B ausentes de sus propios hematíes. Su presencia obedece a un estímulo natural, pues la sustancia A y B tienen ampliamente distribución en la naturaleza, antígenos a los cuales se está expuesto desde el momento del nacimiento. El recién nacido no contiene anticuerpo anti-A o anti-B naturales, a menos que la madre haya producido una forma inmune durante el embarazo.

La síntesis de anticuerpos en el niño, comienza entre los 3-6 meses, alcanzando su máximo nivel de los 5 – 10 años, para después decrecer progresivamente. La producción de anticuerpos se mantiene relativamente constante a lo largo de

toda la vida adulta, sin embargo, en los ancianos los niveles de anti-A y anti-B pueden ser inferiores a los observados en los adultos (*Dávila M., 2013*).

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

La capacidad de fijar complemento por algunos de estos anticuerpos es también importante para el entendimiento de algunos fenómenos in vitro e in vivo. Usualmente los anticuerpos IgG tienen mayor significado clínico y en la Enfermedad Hemolítica del recién nacido son los anticuerpos IgG los responsables de la enfermedad.

Por otro lado, reacciones hemolíticas transfusionales causadas por anticuerpos IgM con fijación de complemento pueden causar hemólisis intravascular severa (ej. Incompatibilidad de grupo ABO) y reacciones transfusionales hemolíticas causadas por anticuerpos IgG pueden causar hemólisis extravascular y reacción menos severa (Ejemplo: la incompatibilidad Rh) (*Grispam 1983*).

Una de las hipótesis que explica el desarrollo de estos anticuerpos se basa en que las configuraciones responsables de los determinantes antigénicos A y B de la membrana eritrocitaria también existen en otras entidades biológicas, en particular las paredes celulares bacterianas (*AABB, 2007*).

La distribución de las bacterias es bien amplia y su presencia en la flora intestinal, polvo, los alimentos y otros sustratos asegura la exposición constante de todas las personas a antígenos del tipo A o B. Los individuos inmunocompetentes reaccionan contra los antígenos ambientales produciendo anticuerpos contra aquellos ausentes en el organismo (*AABB, 2007*).

6.2.5. Sistema H

Los glóbulos rojos del grupo O carecen de antígenos A y B y la membrana expresa abundante H. Como H es un precursor de antígenos A y B, las personas A y B tienen menos sustancias H que las personas O. El monto de antígenos H detectados en los glóbulos rojos con lectina anti-H es, en orden decreciente, O>A₂>B>A₂B>A₁>A₁B.

Estos anti-H son bastante débiles, casi siempre reaccionan a temperatura ambiente o menos y no se les considera significativos desde el punto de vista clínico. Los individuos del fenotipo O_h excepcional carecen de antígenos H eritrocitarios, tienen un aloanti-H potente y clínicamente importante en el suero (AABB, 2007).

6.2.6. Fenotipo O_h

El término O_h o fenotipo Bombay se aplica en los individuos muy infrecuentes cuyos glóbulos rojos y secreciones carecen de antígenos H, A y B y cuyo plasma contiene anti-H, anti-A, y anti-B potentes.

Este tipo se descubrió en Bombay, India en 1952, inicialmente, el fenotipo se asemeja al grupo O normal, pero se pone en manifiesto cuando se analiza el suero de las personas O_h con eritrocitos O y se registra fuerte aglutinación inmediata o hemólisis. Los anti-H de las personas O_h reaccionan con los glóbulos rojos, de todos los grupos excepto los de otras personas O_h en un rango de 4 – 37°C (AABB, 2007).

Las personas O_h solo pueden recibir sangre O_h, porque sus anticuerpos destruyen con rapidez las células con antígenos A, B o H. Si se dispone de otras muestras eritrocitarias O_h, podría confirmarse por su compatibilidad sérica (AABB, 2007).

6.2.7. Título de Aglutininas a Diferentes Edades

Inmediatamente después del nacimiento, la cantidad de aglutininas en el plasma es casi nula. De 2 a 8 meses después del nacimiento, el niño empieza a producir aglutininas anti-A, cuando el aglutinógeno del tipo A no está presente en las células y aglutininas anti-B, cuando los aglutinógenos del tipo B no están en las células. La concentración máxima se alcanza normalmente a los 8 a 10 años de edad, y declina de manera gradual a lo largo de los años restantes de vida.

El factor Rh es un sistema compuesto por muchos aglutinógenos que existe en los eritrocitos del ser humano y en algunas especies de primates; de mucho, este sistema se descubrió en los glóbulos rojos del mono Rhesus del cual deriva las iniciales de su nombre.

Entre los aglutinógenos del sistema Rh, el que más induce respuestas inmunológicas es el conocido como “aglutinógeno D”. Cuando un individuo lo posee, se dice que es “Rh positivo”. Por el contrario, su ausencia determina que la persona sea “Rh negativo” por lo tanto, que forme aglutina anti-D cuando su sangre hace contacto con los eritrocitos portadores del aglutinógeno D la síntesis de aglutinina anti-D no se hereda, sino se adquiere mediante la exposición a eritrocitos extraños, y perdura muchos años, quizás toda la vida (*Gryt y Hall 2^{da} edición*).

6.3. Sistema de Grupo Sanguíneo Rhesus

El diminutivo Rh es usado para abreviar la palabra Rhesus, la cual significa mono en griego. Su origen se encuentra en 1940 cuando Landsteiner y Alexander salomón Weiner, descubrieron un antígeno en los hematíes al que bautizaron como factor Rh, al haber sido hallado en el suero de conejos inmunizados con sangre procedente de un mono de la India de la especie *Macacus Rhesus* (*Maroto R. 2007*).

6.3.1. Descubrimiento de los Antígenos D

Los términos Rh positivo y Rh negativo se refieren a la presencia o ausencia de antígeno D en los glóbulos rojos. El primer ejemplo de anticuerpos de humano contra los antígenos D fue identificada por Levine y Stetson e 1939 en el suero de la madre de un niño con enfermedad hemolítica del recién nacido que presentó una reacción hemolítica después de recibir una transfusión de sangre de su esposo.

En 1940 Landesteiner y Wiener descubrieron anticuerpos desarrollados en cobayos y conejos inmunizados con eritrocitos de monos Rhesus; Ese mismo año Levine y Katzin encontraron anticuerpos similares en el suero de varias puérperas y en por lo menos uno, registraron reacciones equivalentes a los de los sueros animales anti – Rhesus. También en 1940 Wiener y Peters advirtieron anticuerpos de igual especificidad en el suero de individuos cuyos glóbulos rojos carecían del determinante y que había recibido transfusiones ABO compatibles en el pasado.

Más tarde se estableció que los antígenos detectados por los sueros Anti Rhesus animales y anti D humano no eran idénticos, que en realidad Landsteiner y Weiner no habían descubierto el anticuerpo Rh sino otro anticuerpo que fue denominado Lewis (LW) , Pero el sistema del grupo sanguíneo Rh ya había recibido su nombre. Poco después de descubrir los anti D, son rasgos genéticos que se transmiten en forma autosómica dominante, se observó que los pacientes Rh negativo desarrollaban Anti Rh solamente al ser inmunizados (Transfusión, embarazo, etc.) (AABB, 2007).

6.3.2. Otros Antígenos

Además de los antígenos D y d, también hay otros antígenos C y E del sistema Rh que en conjunto son CDE, y sus respectivos alelos recesivos cde y las combinaciones son mucho más, por ejemplo: CCDDEE, CcDdEe, ccddee, CDE

etc. Los anticuerpos específicos anti-c no pueden aglutinar eritrocitos con antígeno C y viceversa, por lo que no es difícil de imaginar que eritrocitos Rh positivos no aglutinen con un antisuero para el sistema Rh, o que las reacciones varíen de un tipo de anti-Rh a otro (*Huang CH., Lui P.Z., & Cheng JG*).

La combinación del sistema CDE está dada por un solo locus de un gen y no en una combinación de estos. La fenotipificación del sistema Rh es un poco complicada ya que para los heterocigotos Dd, Cc, Ee tendrían que usarse antisueros mixtos y determinar si todos los anticuerpos pudieron aglutinar (*Cartron JP., Rue A. 2000*).

El antígeno D también tiene una variante que es D^u, cuya estructura molecular muestra defectos con respecto a la estructura molecular de D. Hay muchas variantes D^u, que se pueden identificar por métodos de anti-inmunoglobulina indirecta o por métodos enzimáticos (*Race RR., Sanger R. 2002*).

6.3.3. Expresión de los Antígenos D

Las personas Rh-Hr derivan de los trabajos de Weiner, quién creía que el producto génico inmediato era una entidad única a la que llamo aglutinógenos. Según Weiner, cada aglutinógeno se caracterizaba por especificidades serológicas múltiples, denominados factores, identificados por anticuerpos específicos. Los datos bioquímicos y serológicos actuales no avalan esta teoría, pero para referirse al fenotipo, muchos profesionales utilizan abreviaturas basadas en el sistema Rh-Hr de Weiner. Los haplotipos se identifican con las letras R y r. la R se usa para haplotipos que producen antígenos D. los subíndices, denotan las combinaciones con otros antígenos por ejemplo: R señala el haplotipos DCe; r señala dce; R₀ señala Dce (*AABB, 2007*).

6.3.4. Antígeno D débil

La mayoría de los eritrocitos D positivos muestra aglutinación macroscópica después de la centrifugación con anti- D y es fácil clasificarlo como tales. Los que

no se aglutinan de forma inmediata o directa plantean dudas. En algunos eritrocitos D positivo, la demostración de antígenos D requiere incubación con anti- D o el agregado ulterior de suero anti globulina (AGH), después de la incubación con anti-D (Prueba Indirecta con Anti Globulina). Aun cuando la prueba requiera un paso adicional, esos eritrocitos se consideran D positivos.

En el pasado, los globulos rojos que demandaban pasos adicionales para la demostración de D se clasificaban como D^u. Esta designación ya no se considera apropiada y los globulos rojos portadores de antígenos que reaccionan débilmente con el D son considerados D positivos y podrían descubrirse como D débil.

Actualmente gracias a los avances logrados en los reactivos policlonales y monoclonales anti-D, es factible detectar algunas células D positivos que habían sido clasificados como D débiles cuando se analizaron con reactivos menos sensibles (*AABB, 2007*).

6.3.5. Antígeno D débil cuantitativo

En la mayoría de los casos, esta forma de los fenotipos D débil deriva de un gen RHD que codifica una proteína RhD alterada asociada con una expresión reducida en la membrana de los globulos rojos. La localización es la transmembrana o el citoplasma de los cambios de aminoácidos de la proteína D alterada no produce una pérdida de epitopos D; por lo tanto no se espera la producción de aloanti-D como en el fenotipo D parcial.

La expresión D débil es bastante común en los negros, a menudo como parte del haplotipos Dce. En los blancos, los genes responsables de la expresión débil D son menos frecuentes, pero podrían observarse en los pocos usuales haplotipos DCe o DcE.

En las pruebas de aglutinación directa, los globulos rojos con antígenos D débil cuantitativos podrían reaccionar poco o nada con la mayoría de los reactivos anti-D. No obstante, cuando se añade suero antiglobulínico al sistema, la reacción es considerable (AABB, 2007).

6.3.6. D parcial

Debido a que algunas personas con globulos rojos D positivo producen aloanticuerpos anti-D que no reaccionan con sus propias células, surge el concepto que postula que los antígenos D consisten en componentes múltiples. La mayoría de estas personas tienen eritrocitos que reaccionan fuertemente con anti-D. Pero las muestras de algunos individuos, en especial los del fenotipo del DVI reaccionan débilmente o solo lo hacen mediante la prueba de anti globulina humana. Los eritrocitos que carecen de partes del complejo antigénico D se denominan D mosaicos o D variantes. La terminología actual más apropiada es D parcial.

La categorización de los fenotipos D parcial fue realizada analizando los aloanti-D producidos por personas D positivos. Las cuatro categorías descritas por Weiner se ampliaron mucho. La evaluación de muchos anti D monoclonales con globulos rojos de diversos tipos D sugiere que los antígenos D comprende numerosos epitopos (AABB, 2007).

6.3.7. Herencia del factor Rh

El antígeno D posee la mayor capacidad antigénica. Los genes responsables de este sistema se localizan en el cromosoma 1.

Existen tres teorías sobre el control genético.

Teoría de Fisher: En 1943 postulan que en el cromosoma 1 existen 3 (tres) locus estrechamente relacionados "D", "C" y "E" con dos pares de alelos "C" "c" y "E" "e"; y el alelo del "D" que no produce antígeno, por lo tanto aceptan colocar

"d" para significar la ausencia del mismo. El grupo de alelos del complejo génico es denominado haplotipos.

Teoría de Weiner: En el mismo año sugería que hay múltiples alelos en un solo locus y que cada alelo codifica un antígeno distinto. Los productos del gen (haplotipos) son designados "R", para los que codifican D y "r" para los que no codifican, se les agregan subíndices o supra índices para indicar los distintos haplotipos que desarrollan.

Teoría de Tippett (1986): Tippett emite la teoría de la existencia de dos genes RHD y RHCD, que son secuenciados en 1990 por Colín y colaboradores. La enfermedad del Rh es provocada por una madre Rh- que concibe un hijo Rh+, los anticuerpos de la sangre materna destruyen el Rh+ del bebé. Si la madre piensa tener un segundo hijo debe aplicarse una vacuna que elimina los anti-Rh, llamada la gamma inmunoglobulina.

Esta debe ser aplicada dentro de las 72 horas después del primer parto ya que si se tiene un segundo bebé con Rh+ la madre producirá anti-Rh en exceso que destruirá la sangre del hijo, produciendo una enfermedad llamada Eritoblastosis fetal (anemia severa), si es que el hijo nace, porque por la producción en exceso de los anti-Rh el hijo puede morir intrauterinamente (*Maroto, R. 2007*).

6.4. Determinación del Sistema Sanguíneo

El sistema sanguíneo se determina según dos principios; determinación de los antígenos en los eritrocitos, mediante antisueros conocidos anti-A, anti-B, anti-AB, y la verificación de la presencia de anticuerpos en el suero mediante eritrocitos conocidos A₁, y B eventualmente A₂ y O, las pruebas de rutina se realizan mediante test de aglutinación a temperatura ambiente.

Las pruebas de la tipificación de grupo sanguíneo en hematíes utilizando anti-A y anti-B para establecer la presencia o ausencia de los antígenos A y B, se

denomina frecuentemente prueba de determinación directa de grupos. Las pruebas de grupo sérico, que utilizan hemáties reactivos A₁ y B para detectar anti-A y anti-B séricos, se denominan pruebas de determinación de grupo inverso. Estas pruebas se complementan y una confirma a la otra.

Los reactivos de grupos sanguíneos se preparan a partir de anticuerpos policlonales naturales o inmunes de sangre humana y en ocasiones de animal, actualmente se obtienen anticuerpos monoclonales derivados de cultivos de células secretoras o hibridomas. Estos reactivos deben de conservarse y usarse de acuerdo con las instrucciones del proveedor, porque se preparan con un diluyente estandarizado y son susceptibles a los cambios de Ph y otros factores.

6.4.1. Pruebas de rutina para Tipificación ABO

Las pruebas de rutina para la tipificación ABO consiste en el análisis de los glóbulos rojos con anticuerpos anti-A y anti-B (pruebas directas o eritrocitarias) y el análisis de suero o plasma con glóbulos rojos A₁ y B (prueba inversa y serología).

Los estudios de rutinas de donantes no pacientes deben incluir pruebas eritrocitarias y serológicas, ya que unas controlan a las otras, para confirmar el tipo ABO de las unidades donadas ya rotuladas o analizar la sangre de lactantes menores de 4 meses, solo se tipifican los glóbulos rojos.

Los reactivos anti-A y anti-B aglutinan la mayoría de los glóbulos rojos positivos por contacto directo, aun sin centrifugación. Los anticuerpos anti-A y anti-B séricos de la mayoría de los pacientes y donantes suelen ser demasiado débiles como para aglutinar los glóbulos rojos sin centrifugación o incubación prolongada. Las pruebas serológicas deben realizarse con métodos que detecten los anticuerpos: en tubos, micro placas, aglutinación en columnas o portaobjetos.

Los reactivos adicionales, como anti-A, anti-B para estudios eritrocitarios y glóbulos rojos A₂ y O para ensayos séricos, no son necesarios para las pruebas de rutina, pero pueden ser útiles para resolver discrepancias en la tipificación. El uso de anti-A, anti-B puede no tener el mismo beneficio para detectar subgrupos débiles con reactivos policlonales (dependiendo de los clones usados) que cuando se usaron reactivos policlonales humanos.

Muchos reactivos monoclonales para la tipificación ABO han sido formulados para detectar algunos de los grupos más débiles. Se debe consultar las instrucciones de fabricantes para las características específicas para los reactivos. Las técnicas especiales para detectar subgrupos débiles de rutinas no son necesarias ya que la discrepancia de tipificación (por ejemplo, la ausencia de anticuerpos esperados) generalmente distinguen estos de los del grupo O.

La finalidad de los glóbulos rojos A₂ es facilitar la detección de anti-A₁. Como la mayoría de las muestras carecen de anti-A₁, el uso de la rutina de este reactivo es innecesario.

Los errores técnicos que pueden llevar a discrepancias ABO incluyen:

1. Confusión de muestra.
2. Suspensión de glóbulos rojos demasiados concentrados o diluidas.
3. Omisión de agregado de reactivos.
4. No se registra la hemólisis.
5. No se respetaron las instrucciones del fabricante.
6. Escasa o excesiva centrifugación.
7. Mala interpretación o registro inadecuado de los resultados de las pruebas.

(AABB,2007)

La determinación del grupo sanguíneo se realiza en dos etapas:

➤ **Prueba directa globular**

Determinan la presencia de antígenos presentes en los glóbulos rojos mediante anticuerpos conocidos (antisueros comerciales), los antígenos presentes

reaccionan con su correspondiente anticuerpo lo cual se hace visible por medio de aglutinación.

➤ **Prueba inversa o sérica**

Determina los anticuerpos presentes en el suero mediante antígenos conocidos (células de genética conocida) los anticuerpos presentes reaccionan con su correspondiente antígeno, lo cual se hace visible por medio de aglutinación.

6.4.2. Tipificación Rh

La tipificación Rh de rutina de los donantes y pacientes solo involucra el antígeno D. La investigación de otros antígenos Rh solo se efectúa con fines definidos, como la identificación de anticuerpos Rh inesperados, la obtención de sangre compatible para pacientes con anticuerpos Rh, las pruebas de paternidad y otros estudios familiares, la selección de células fenotipificadas para el reconocimiento de anticuerpos y la evaluación para determinar si una persona es homocigota o heterocigoto para RHD.

Cuando se busca sangre compatible para un receptor con anticuerpos Rh comparativamente débiles, el uso de reactivos potentes para detectar la ausencia de antígenos puede ser más fiable que la prueba de compatibilidad cruzada. La determinación del fenotipo de paciente podría ayudar a confirmar la especificidad de los anticuerpos e indicar la presencia de otros anticuerpos-Rh.

➤ **Investigación de rutina de antígeno D**

Hasta hace pocos años, la mayoría de las pruebas de rutina utilizaba reactivos anti-D hiperproteicos policlonales humanos, apropiados para las técnicas en portaobjetos, tubos o micro placas, ahora se dispone de reactivos anti-D monoclonales. Las pruebas pueden utilizar glóbulos suspendidos en solución salina, suero o plasma, pero es esencial que se cumplan las instrucciones del fabricante de los reactivos. Los procedimientos para la pruebas en micro placas

son similares a aquellas en tubo, pero utilizarse suspensiones de glóbulos rojos muy diluidos.

Las pruebas en portaobjetos solo brindan resultados óptimos cuando se combinan con concentraciones elevadas de glóbulos rojos y proteínas a 37⁰C. La principal desventaja de las pruebas en portaobjetos es la evaporación del medio, lo que puede provocar una agregación de hematíes que puede confundirse con aglutinación, esta técnica aumenta el riesgo biológico porque implementándola se produce mayor posibilidad de salpicaduras con sangre y contaminación.

Los Estándares de Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB) requieren técnicas para mostrar D débil solamente para la sangre de donante o para analizar la sangre del recién nacido de madres Rh negativos para determinar si son candidatos a recibir inmunoglobulina Rh. Si es preciso investigar D débil se lleva a cabo una prueba antiglobulínico. No hay procedimientos en placas para determinar la expresión de D débil que sean confiables.

➤ **Prueba del Du**

La mayoría de los eritrocitos D positivo muestra aglutinación macroscópica después de la centrifugación con anti-D y es fácil clasificarlos como tales. Los que no se aglutinan en forma inmediata o directa plantean dudas. En algunos eritrocitos D positivos, la demostración de antígenos D requiere incubación con anti-D o el agregado ulterior de suero antiglobulínico (AGH) después de la incubación con anti-D (prueba indirecta con anti globulina). Aun cuando la prueba requiere un paso adicional, esos eritrocitos se consideran D positivo.

Actualmente gracias a los avances logrados en los reactivos policlonales y monoclonales anti-D, es factible detectar algunas células D positivos que habrían sido clasificadas como D débiles cuando se analizaron con reactivos menos sensibles.

Por otra parte, los anti-D monoclonales podrían reaccionar por aglutinación directa con los epitopos del antígeno D que antes requería métodos más sensibles para reaccionar o en ocasiones, podrían no reaccionar con otros epitopos de los antígenos D, a la inversa, con la prueba directa algunos anti-D monoclonales puede reaccionar con epitopos raros de antígenos D que no se habían podido detectar con reactivos policlonales (por ejemplo, DHAR y Crawford). Es importante conocer que los reactivos anti-D varían entre los distintos fabricantes y esas diferencias deben ser conocidas por los usuarios (AABB, 2007).

6.4.3. Uso del suero anti-AB

En general, se utiliza suero anti-AB para no pasar por alto antígenos A y B débiles. Los anticuerpos anti-A y anti-B de esta mezcla poseen gran afinidad por los antígenos débiles y podrían provocar aglutinación considerable aun cuando los anti-A y anti-B específicos no reaccionan.

Este suero en primer lugar confirma la correcta utilización de los sueros anti-A y anti-B, y en segundo lugar tiene mayor importancia que el anti-A para hallar subgrupos de A, cabe aclarar que el suero anti-AB no solo tiene anti-A y anti-B, sino además posee un anticuerpo de reacción cruzada contra antígenos A y B que producen individuos de grupo O, y que es el que le da su mayor potencia.

Los globulos rojos que se utilizan en la determinación del grupo sanguíneo puede necesitar lavarse con solución salina para remover el plasma o suero y los coágulos que podrían provocar falsos positivos si se confunden con aglutinados. Este procedimiento también elimina los eritrocitos hemolizados.

Las células que se utilizan para la prueba inversa, se preparan a partir de muestras fresca y si es factible, provenientes de dos individuos. Se usan células

A Rh D negativas, B Rh D positivas y O Rh D positivas. En lo posible, deben prepararse a diario. Si se conservan a 4 °C, pueden emplearse durante dos días.

6.4.4. Pruebas para tipificación ABO

Las pruebas de rutina para la tipificación ABO consisten en el análisis de los glóbulos rojos con anticuerpos anti A y anti B (pruebas directas o eritrocitarios) y el análisis de suero y plasma con glóbulos rojos A y B (pruebas inversas y directa).

Los reactivos anti A y anti B aglutinan la mayoría de los glóbulos rojos positivos por contacto directo, aún sin centrifugación. Los anticuerpos anti A y anti B séricos de la mayoría de los pacientes y donantes suele ser demasiado débiles como para aglutinar los glóbulos rojos sin centrifugación o incubación prolongada. Las pruebas serológicas deben realizarse con métodos que detecten los anticuerpos en tubos, micro placas, aglutinación en columnas o porta objetos.

Muchos reactivos monoclonales para la tipificación ABO han sido formulados para detectar algunos de los subgrupos más débiles. Las técnicas especiales para detectar subgrupos débiles de rutina no son necesarias ya que la discrepancia de la tipificación (la ausencia de anticuerpos esperados) generalmente se distingue estos del grupo O.

➤ **Técnica en tubo**

Esta técnica fue empleada desde 1908 por Ottenberg hasta nuestros días, se emplea tubos de plásticos o de vidrio, se adiciona el suero reactivo y las células problemas, se mezclan gentilmente y centrifugan a revolución constante, la lectura se realiza interpretando como positivo la formación de un botón aglutinación el cual es sujeto a una ponderación para su mejor interpretación.

Entre los problemas difíciles de estandarizar y que son comunes a las técnicas tubo y placa resaltan: operación, lavados, tiempos, estabilidad, identificación, interpretación difícil, evidencia y espacio (*Dr. Alfredo Radillo Gonzales 2013*).

➤ **Técnica en micro placas para la tipificación Sanguínea**

El uso en micro placas en el banco de sangre tuvo lugar en la década de los 60, siendo las técnicas desarrolladas por Grawford y Gottman. Han ido con posteridad experimentando una gran aceptación debido a las ventajas que presenta sobre los métodos convencionales, siendo una muy buena alternativa para procesar un gran número de muestras sin el costo que supone la automatización.

Una micro placa puede considerarse una gradilla de 96 tubos de pequeño tamaño, con un volumen que oscila entre 200 y 300 micro litros, dispuesto a lo largo de 8 filas horizontales y 12 filas verticales. Las micro placas pueden ser rígidas o flexibles, la elección depende de la preferencia y experiencia del personal del técnico. No obstante las más utilizadas son las rígidas y con pocillo en U, debido a que estas permiten tanto la lectura macroscópica como por medio de lectores automáticos (*Franco E., 1998*)

Entre las ventajas del uso de micro placas con respecto a las técnicas en tubos podemos decir las siguientes.

- ✚ Igual o superior sensibilidad.
- ✚ Ahorro de reactivo debido a las pequeñas cantidades que se precisan y a que se utilizan generalmente diluidos.
- ✚ Necesidad escasa de equipamiento especial.
- ✚ Rapidez en la ejecución con ahorro del tiempo del técnico.
- ✚ Reducción considerable del material del laboratorio.

➤ **Fundamentos de la tecnología en Gel**

Esta tecnología de micro tipificación en gel fue descrita y desarrollada en 1984 por Dr. Yves LaPierre, esta nueva técnica se basa en la separación por tamaño de los eritrocitos aglutinados, durante un proceso de centrifugación en un gel poroso. Los eritrocitos van perdiendo elasticidad en sus membranas de forma que los aglutinados grandes quedan atrapados en la zona superior y los pequeños quedan distribuidos a lo largo de la columna.

Esta técnica nos permite que estandaricemos la lectura de la reacción antígeno-anticuerpo con facilidad y repetitividad. Así como la estandarización del uso de reactivos, tiempos y lecturas disminuyendo Sustancialmente la influencia de la mano del operador. (Márquez E., 2008). La tarjeta DG-Gel tiene 8 micro tubos compuestos por un gel (micro esferas de dextranos) que sirve como soporte para evitar que los eritrocitos aglutinados crucen hasta el fondo del micro tubo, de tal forma que solo los eritrocitos libres o no aglutinados podrán migrar formando un pequeño botón al final del micro tubo.

➤ **Tipos de tarjetas DG-Gel**

El Sistema DG-Gel cuenta con aproximadamente 14 diferentes tipos de tarjetas para realizar una extensa serie de análisis inmunohematológicos, con fines de identificación e investigación.

➤ **Tarjeta DG-Gel ABO/Rh (2D)**

Esta tarjeta se utiliza exclusivamente para la determinación del grupo sanguíneo hemático (tipificación directa) y sérico (tipificación inversa).

Condiciones de conservación: 2-8 °C.

 **ABO/Rh for Newborns**

Esta tarjeta se utiliza exclusivamente para recién nacidos, al nacer los antígenos A y B no están totalmente desarrollados, las reacciones pueden ser más débiles que con la sangre de adultos y a menudo no pueden identificarse los sub-grupo.

El suero de los adultos contiene anticuerpos contra los antígenos A y B ausentes en sus propios hematíes. Estos anticuerpos aparecen después de los primeros 4 o 6 meses de vida. Por consiguiente, el grupo inverso o grupo sérico no se debe realizar en el recién nacido. Por eso, está indicado confirmar la determinación de grupo sanguíneo de los recién nacidos a los 2 o 4 años, cuando los antígenos A y B están totalmente desarrollados.

El antígeno D, igual que el D débil está totalmente desarrollado al nacer. En las madres Rh negativas es indispensable determinar el antígeno D y D débil del recién nacido.

La realización de la prueba de anti globulina directa (PAD) en recién nacidos es una determinación de rutina ya que es importante saber si los hematíes de los recién nacidos están sensibilizados con anticuerpos maternos intra útero. Es importante señalar que esta técnica para realizarla hay que hacerle seis lavados para eliminar la gelatina de Wharton en caso de que sean recién nacidos, porque esta nos puede dar un resultado que no concuerde de manera de no interpretar el resultado.

Composición de los micros tubos de la tarjeta de DG-Gel.

Los micros tubos están compuestos de las siguientes partes:

- 1) La cámara de reacción/incubación es la parte de la tarjeta donde se lleva a cabo la reacción antígeno-anticuerpo, está diseñada para facilitar la dispensación de los reactivos y mejora la fase de sensibilización de los mismos.
- 2) El cuello permite una mayor resistencia a la caída de los reactivos hacia el gel de la columna, esto debido al efecto "air-gap" o vacío que se produce en esta parte.
- 3) La columna mejora la estabilidad del gel y permite una mejor visibilidad de los resultados positivos o incompatibles.

- 4) El fondo en forma de “V” proporciona una mayor definición de los resultados negativos o compatibles y débilmente positivos.
- 5) El gel sephadex, compuesto por micro esferas de dextranos, permite obtener una alta definición de la reacción de aglutinación, debido al tamaño de sus partículas (mayor uniformidad), la distribución globular homogénea y contribuye a que la velocidad de centrifugación sea menor.
- 6) El sobrenadante, contiene los reactivos correspondientes a cada tarjeta.

Ventaja de la técnica en gel empleada:

1. Ahorro de materiales
2. Disminución de error técnico en base a la agregación o no del reactivo.
3. Mayor precisión de los resultados

Desventaja en la técnica en gel:

1. El costo monetario de esta prueba no es muy accesible.
2. Otra desventaja es un error de fábrica que nos pueda afectar en el proceso sin darnos cuenta.

Ventaja en la técnica en tubo:

1. En esta podemos detectar claramente la ausencia o presencia de algún otro anticuerpo que interfiera.
2. Se realiza de manera directa los lavados correspondientes.
3. Se aprecia mejor la aglutinación.
4. No tiene un costo tan alto.

Desventaja en la técnica en tubo

1. El tiempo es un poco más por los lavados realizados y la centrifugación para la lectura.
2. La no agregación del reactivo correspondiente.
3. Algún error causado por el técnico.

6.5. Errores en la determinación del grupo Sanguíneo

Existen errores potenciales que podrían generar resultados falsos positivos o falsos negativos en la determinación de grupo sanguíneo, sin embargo, si se aplica correctamente el procedimiento indicado y se efectúan los controles correspondientes, es factible evitar errores.

✚ Estandarización o conservación incorrecta de los antisueros:

Para evitar resultados falsos negativos, es necesario evaluar todo el lote de antisueros antes de utilizarlos, conservarlos a la temperatura indicada por el proveedor y evitar el uso de antisueros infectados, porque estos pueden inducir resultados falsos positivos.

✚ Muestra de sangre contaminada:

Estas pueden afectar los resultados. En general, pero no siempre, se reconocen por el olor desagradable y cuando se preparan células para la determinar el grupo, se advierte hemólisis. En estos casos es preferible solicitar una nueva muestra.

✚ Formación de pilas de monedas:

A menudo se denomina pseudoaglutinación. Este fenómeno suele observarse en el suero de pacientes con proporción albumina/ globulina anormal. Si se le agrega 1 gota de solución salina hipertónica (1,5%), las pilas de monedas desaparecen pero la aglutinación verdadera no.

Gelatina de Wharton:

Es la sustancia que recubre el cuerpo y el cordón umbilical del recién nacido y a menudo se identifica en las muestras de sangre de cordón umbilical obtenidas en forma directa y no a través de una jeringa. Este material mucoso contamina las muestras y puede provocar la formación de pilas de monedas. Para eliminarlo, se lavan las células en solución salina calentada a 37°C.

Autoanticuerpos y anticuerpos de reacción en frío:

La sangre de algunos pacientes contienen autoanticuerpos que reaccionan con las células A, B y O en la determinación inversa del grupo. En estos casos se incubaba la preparación a 37°C antes de leer los resultados. Como muchos de estos anticuerpos actúan a temperaturas inferiores a la corporal, se advierten reacciones ABO verdaderas. A veces los anticuerpos son potentes y causan hemólisis a 37°C. Si es así, se realiza una prueba de Coombs directa (*Dávila Ma.; 2013*).

Técnica incorrecta:

La mayoría de los errores se deriva por realizar una técnica inadecuada, en particular.

- Colocación de los antisueros o células en los tubos equivocados.
- Falta de apreciación de la importancia de la temperatura y el tiempo de incubación.
- Transcripción incorrecta de los resultados.
Algunos problemas técnicos que producen negativos falsos en las pruebas ABO realizadas con hematíes o sueros son debido a:
 - No añadir suero o antisuero a una prueba.
 - Identificar la hemólisis como una reacción negativa.
 - Inadecuada relación suero/hematíes.
 - Centrifugación incorrecta.
 - No incubar a temperatura de 20-25 °C o menos.
 - Uso de reactivos que no funcionen adecuadamente.
 - No interpretar o registrar los resultados correctamente.

Los problemas técnicos que producen positivos falsos en la prueba incluyen:

- Sobre centrifugación.
- Uso de antisueros, hematíes o solución salina contaminada.
- Empleo de material sucio.
- Interpretación o registro incorrecto de los resultados

Discrepancias entre la prueba globular y prueba sérica

Se produce una discrepancia cuando la interpretación de las pruebas de la determinación de grupo hemático no concuerda con la sérica. Estas discrepancias pueden deberse a errores técnicos, factores intrínsecos de los globulos rojos o el suero o factores extrínsecos a la prueba. Los problemas técnicos pueden producir discrepancias en las pruebas ABO bien por la obtención de resultados negativos en lugar de positivos, o positivos en lugar de negativos.

Algunas discrepancias pueden atribuirse a problemas que surgen en las pruebas de determinación del grupo hemático. Otras se producen por problemas en las pruebas de determinación de grupo sérico (*Dávila, M.; 2013*).

✚ Discrepancias por problemas de glóbulos rojos.

Antígeno débil o ausente:

Esto ocurre en algunas o pocas personas, y también a veces en la leucemia. Su evidencia por la falta de reacción A en los globulos rojos con suero anti, siendo que también carecen del anticuerpo respectivo ABO en el suero. El resto de prueba negativo. Se estudia por técnicas de adsorción –elución en niveles superiores.

Antígeno B adquiridos:

En pacientes con cáncer colo-rectal, infección a Gram negativos y obstrucción intestinal. Aparece una reacción débil de los globulos frente a suero anti-B, y

coexiste anticuerpos anti-B este suero se ve en pacientes A₁, que aparentan en este caso ser AB. Se transfunden paquetes con A u O.

Globulos poliaglutinables:

Este es un fenómeno posible en vivo o in vitro por acción de productos bacterianos que toman a los eritrocitos aglutinables frente a cualquier suero. Los globulos parecen entonces siempre AB, pero en suero se hallan anticuerpos anti-A o anti-B, indicando el grupo original. Se estudian por técnicas especiales.

Campos mixtos:

Es el patrón que unos globulos aglutinan y otros no, quedando en suspensión. Esto se debe a la presencia de más de una población celular. Existen tres causas:

- Transfusión ABO no isogrupos recientes.
- Quimerismo (una característica congénita).
- Globulos subgrupos A₃ frente a suero anti-A.

Células recubiertas de anticuerpos:

Estas células, Coombs directo positivo desde ya, pueden por su cobertura con anticuerpos reaccionar aglutinando espontáneamente en cualquier medio proteico como el de los sueros anti-A, anti-B dando erróneo grupo directo. Deberían estudiarse por técnicas de elución por calor (*Dávila, Narváez Ma. E; 2013*).

✚ Discrepancias por problemas del suero.

Formación de Rouleaux o pilas de monedas:

Se ve por reacciones serológicas positivas de más, que incluyen positivamente contra células grupo O y en el autocontrol. El Coombs directo debe ser negativo. Se produce por alta concentración y anormalidad de proteínas plasmáticas, como en el mieloma múltiple, cirrosis hepática, síndrome de hiperviscosidad. La

aglutinación de los rouleaux es para la inmunohematología un falso positivo, ya es inespecífica y no depende de la reacción antígeno- anticuerpo.

Anti – A₁:

Alrededor del 80% de los individuos grupo A y grupo AB pertenecen al subgrupo A₁, el de mayor expresión antigénica. Los otros 20%, son del grupo A₂, que expresa menos el antígeno A, subgrupos menores frecuente son el A₃, A_x etc.

Autoanticuerpos fríos:

Son autoanticuerpos anti-I que obstaculizan seriamente el grupo inverso y directo e incluso el Rh. Señala Coombs directo positivo, reaccionan contra células A₁, B y O y autocontrol positivo. El grupo directo en estos casos no es confiable, se deben resolver a un nivel superior.

Aloanticuerpos fríos:

Los más hallado frecuentemente son anti- M y anti- P, se evidencia por reacciones serológicas positivas de más frente a las células A₁ y B, mientras indirecto puede indicar antígenos A y B. El Coombs directo es negativo, igual que el autocontrol y el suero puede reaccionar contra algunos globulos rojos grupo O y contra otros no, requiere pruebas de identificación de anticuerpos en un nivel superior.

Anticuerpos esperados no presente:

Se observa en hipoagammaglobulinemias y otras patologías, también en ancianos y recién nacidos. En este caso faltan los anticuerpos ABO recíprocos. El Coombs directo negativo al igual que el autocontrol y la reacción contra las células O. Debe presentarse atención a la posibilidad de un antígeno débil en los eritrocitos (*Dávila, M., 2013*).

6.6. Importancia clínica del sistema sanguíneo ABO/ Rhesus

Los antígenos y anticuerpos que hacen parte del sistema sanguíneo ABO juegan un papel importante no solo en las reacciones transfusionales, susceptibilidad a infecciones por parásitos como el Plasmodium falciparum y bacterias. Además, algunas enfermedades, como la Artritis Reumatoide y enfermedad de Von Willebrand, se han asociado con alteraciones en la expresión de los antígenos en la membrana de los eritrocitos.

Importancia en las reacciones transfusionales

Durante las tres últimas décadas se ha mejorado la seguridad en las transfusiones sanguíneas debido a una disminución de los riesgos de contaminación infección; sin embargo la transfusión con sangre incompatible continúa siendo una causa importante de morbilidad y mortalidad.

Una transfusión con sangre ABO incompatible tiene grandes riesgos y aun pequeñas cantidades pueden ser fatales en ciertas condiciones. La destrucción de los eritrocitos ocurre a nivel intravascular y es inmediata produciendo Coagulación Intravascular Diseminada, fallo renal y muerte. Las causas más comunes no se asocian con errores técnicos, sino con errores administrativos, como falla en la identificación de los pacientes o de las unidades a transfundir (*Janatpour KA, Kalmin ND, Jensen HM, Holland PV 2008*).

Importancia en el recién nacido

La incompatibilidad en el sistema ABO para el recién nacido es frecuente, ocurre en aproximadamente en el 20% de todos los embarazos y aunque las manifestaciones clínicas pueden variar ampliamente, se sabe que siempre existe algún grado de enfermedad hemolítica (*Madlon- kay Dj 1993*).

Los anticuerpos ABO tipo IgG que cruzan la placenta son la causa más común de enfermedad hemolítica del feto y del recién nacido. Afortunadamente su

presentación es leve a moderada raramente es clínicamente importante, produciendo usualmente un cuadro de ictericia leve que cede con fototerapia. La enfermedad hemolítica del feto y del recién nacido se presenta por lo general en feto y recién nacidos con grupo sanguíneos A o B de madres grupos O, y puede ocurrir en el primer embarazo (*Madlon- kay Dj 1993*).

Importancia en trasplantes

La poca disponibilidad de órganos en la medicina de trasplante ha estimulado el desarrollo estrategias que amplíen el pool de donantes, incluyendo el uso de donantes vivos de órganos ABO incompatibles y de xenotransplantes (cerdo a humano) (*Stussi G, West L, Cooper DK, Seebach JD 2006*). Sin embargo los anticuerpos en los receptores pueden medir un rechazo híper agudo como el que se presenta después de un trasplante cardiaco o renal. Algunos estudios han realizado trasplantes renales con éxito de A₂ a receptores B o O (*Warner PR, Nester TA 2006*).

En el caso de trasplante de medula ósea ABO incompatible se puede producir hemólisis por dos factores: 1- Que el receptor tenga anticuerpos dirigidos contra eritrocitos del donantes y 2- Que los linfocitos del donantes produzcan anticuerpos contra los eritrocitos del receptor (enfermedad injerto – versus-huésped). Este riesgo disminuye sustancialmente si se utilizan células madres purificadas obtenidas de sangre periférica, ya que contiene menos eritrocitos y más linfocitos que la medula ósea (*Rowley SD, Liang PS, Ulz L 2000*).

VII. DISEÑO METODOLÓGICO

a) Área de estudio

Hospital Solidaridad ubicado frente al Instituto Nicaragüense de Estudios Territoriales América, Managua Nicaragua.

b) Tipo de estudio

Descriptivo de corte transversal.

c) Universo y muestra

Estuvo constituido por 100 casos, el cual corresponde al 100 % de los pacientes en estudio.

d) Tipo de muestreo

No Probabilístico por conveniencia.

e) Criterios de inclusión

- ✚ Personas mayores de 15 años atendidas en la consulta externa del Hospital Solidaridad.
- ✚ Que no sean pacientes poli transfundidos.
- ✚ Que no presenten o tengan ningún tipo de anemia.

f) Variables

- ✚ Edad y sexo de los pacientes en estudio.
- ✚ Frecuencia de grupos sanguíneos ABO y Rhesus.
- ✚ Técnica de Aglutinación en Tubo con la Técnica de Micro tipificación en Gel.

g) Recolección de datos

La obtención de los datos fue de Fuente Primaria, obtenida directamente por las investigadoras mediante la tipificación sanguínea en el Hospital Solidaridad. Para

lo cual se realizó coordinación con la Jefa de Laboratorio Lic. Karen Santamaría y con la Lic. Brenda Responsable del Servicio Transfusional.

h) Instrumento de Recolección

Para la obtención de la información se utilizó una ficha de recolección de datos y una hoja de resultados que integraron las variables de estudio con el cual se obtuvieron los datos. Las fichas fueron diseñadas por las investigadoras.

i) Procesamiento y Análisis

El procesamiento y análisis se hizo de acuerdo a los objetivos planteados.

Para la realización del análisis estadístico se elaboraron tablas. El documento y presentación del trabajo final se elaboró con los siguientes programas de informática:

-  Microsoft office Word 2010, para diseñar la información.
-  Microsoft office Excel 2010, tablas y gráficos porcentuales.
-  Microsoft office Power Point 2010, para la presentación del trabajo realizado.

j) Ética en la confidencialidad de los datos

La confidencialidad en este trabajo de investigación, no requirió del consentimiento informado de los pacientes en estudio, ya que la información se obtuvo de las muestras codificadas de tal manera que no permitiera identificar los nombres y/o direcciones de las personas en estudio.

Las autoras se abstienen de cualquier uso de los datos contenidos en este documento y no serán responsables de ningún daño causado en las muestras como resultado de su uso. Es de mucha importancia especificar que este estudio no debe de ser utilizado en conexión con fines comerciales o promocionales.

k) Métodos utilizados para la determinación de los sistemas de grupos sanguíneos ABO y Rhesus (D).

Técnica en gel

Materiales reactivos y equipos utilizados

- 1) Células A, células B y células O positivos.
- 2) Frascos goteros de 10 ml.
- 3) Gradillas
- 4) Pipetas automáticas de 1-5 ml y 200 – 1000 ul.
- 5) Pipetas Pasteur.
- 6) Muestras de sangre con EDTA.
- 7) Tarjetas de gel del paciente ABO/ Rh (D).
- 8) Reactivos de albumina al 22%, Anti A, Anti B y Anti D.
- 9) Solución salina fisiológica 0.85% o 0.9%.
- 10) Solución salina de baja fuerza iónica
- 11) Tubos de 13x100 mm y 12 x 75 mm.
- 12) Baño maría.
- 13) Centrifuga clínica.
- 14) Lámpara de lectura.
- 15) Preparación de suspensión de células al 5% o 2-4%

Principio: La suspensión celular aporta los antígenos necesarios para la reacción antígeno-anticuerpo para lo cual se deberá mantener un equilibrio en la formación de los complejos antígeno-anticuerpo.

- 1) Centrifugar la muestra y separar el suero o plasma de los eritrocitos.
- 2) Colocar en un tubo de ensayo 12 X 75mm de 0.2-0.5 ml de glóbulos rojos.
- 3) Agregar solución salina al 0.9% hasta las $\frac{3}{4}$ partes del tubo (hasta 1cm del borde).
- 4) Centrifugar durante 2 minutos a 3400 rpm y decantar la solución salina para sedimentar las células.
- 5) Extraer toda la solución salina.

- 6) Agregar un poco de solución salina y agitar el tubo de ensayo para resuspender los glóbulos rojos. (Esto constituye el primer lavado)
- 7) Repetir hasta completar 3 lavados. En el último lavado la solución salina debe ser clara, sin signos de hemólisis.
- 8) Agregar salina hasta la mitad del tubo. La suspensión preparada deberá presentar un color rojo cereza.
- 9) Para preparar la solución al 4% agregar 1 volumen de glóbulos rojos a 40 volumen de solución salina (200µl de glóbulos rojos más 800µ de solución salina) con pH 6.5-7.5, si se usa diariamente no requiere amortiguar.

Preparación de células A, B y O

Principio: Los eritrocitos poseen en su membrana la estructura antigénica que caracteriza al grupo sanguíneo. Las células A y B poseen antígenos A y B que son utilizados para la detección de sus correspondientes anticuerpos.

- 1) Seleccionar una muestra de sangre con anticoagulante del grupo A, verificar si es A₁ realizándole a la muestra una prueba con Lectina Anti- A₁.
- 2) Seleccionar una muestra de sangre con anticoagulante de grupo B.
- 3) Seleccionar una muestra de sangre con anticoagulante de grupo O.
- 4) Centrifugar las muestras por 5 minutos a 3400rpm, descartar el plasma sobrenadante con una pipeta Pasteur.
- 5) Colocar 1 cc de paquete globular en un tubo 13 X 100 mm y lavar las células 4 veces con solución salina centrifugando a 3400rpm por 5 minutos. Descartar siempre la salina con una pipeta Pasteur y en la última lavada procurar eliminarla completamente.
- 6) Colocar 0.5 ml del paquete lavado en el frasco previamente esterilizado y etiquetado, destinado para su almacenamiento. Agregar 9.5 ml de solución salina.
- 7) Almacenar a temperatura de 4°C, no dejarlos a temperatura ambiente si no se utilizan, las células con alta temperatura tienden a hemolizarse.

Nota: La vigencia de las células será máxima de 7 días o en el momento que presente hemolisis.

Preparación de muestras para tipificación sanguínea

Después de la sangre ya extraída del paciente en un tubo piloto con EDTA seguimos a los siguientes pasos:

- 1) Organizar los tubos en la centrifuga.
- 2) Centrifugar los tubos con las muestras por 5 min a 3500 rpm.
- 3) Verificar que los tubos no presentan hemólisis ni coágulos de fibrina. en caso de presencia de fibrina centrifugar nuevamente a 3500 rpm por otros 5 minutos más.
- 4) Identificar los tubos para la determinación del grupo sanguíneo sérico y celular, colóquelos en las gradillas correspondientes.

Procedimientos Técnica en Gel

Determinación de los grupos sanguíneos ABO y Rh (D)

Para determinar el grupo ABO del receptor deben enfrentarse los hematíes con sueros hemoclasificadores anti-A, anti-B y anti-AB y el suero o plasma del paciente con hematíes A y B.

Para el Rh deben enfrentarse los hematíes al suero anti-D (Rho).

Tipificación ABO /Rh y grupo inverso

- 1- Preparar suspensión al $\pm 0.8\%$ del eritrocito del paciente / donante.
 - a) Dispensar 1.0 ml de diluyente 2 en un tubo de ensayo.
 - b) Añadir 10 μ l de paquete celular del paciente / donante al tubo de ensayo con el diluyente 2.
- 2- Identificar adecuadamente la tarjeta de gel y remover el aluminio.

Antes de remover el aluminio, observar:

 - Que la tarjeta no tenga burbujas de aire en el gel.
 - Que no haya evidencia de secado en el gel.
 - Que el sello no esté dañado.

- 3- Añadir la muestra a la tarjeta de gel.
 - a) Grupo inverso
 - Añadir 50 µl de suspensión al $\pm 0.8\%$ de células A₁ y B al micro tubo correspondiente.
 - Añadir 25 µl de suero o plasma de paciente / donante a cada tubo.
 - Incubar a temperatura ambiente por 10 minutos.
 - b) Tipificación ABO /Rh(D)
 - Añadir 50 µl de suspensión al $\pm 0.8\%$ de eritrocitos del paciente / donante a los micro tubos correspondientes.
- 4- Fase de reacción
 - Centrifugar por 10 minutos
- 5- Observar y documentar los resultados
 - Observar y leer las reacciones por ambos lados del micro tubos.
 - Documentar interpretación en tarjeta de gel y registros correspondiente.

Técnica en Tubo

Procedimiento técnico en la determinación de los sistema ABO/ Rhesus

- 1) En un tubo rotulado con el número del paciente, preparar una suspensión de células al 5% lavadas una vez con solución salina al 0.9 %.
- 2) Colocar en un tubo de ensayo una pequeña cantidad de sangre (0.2-0.5 ml o 5 gotas de glóbulos rojos).
- 3) Agregar solución salina al 0.9% hasta las $\frac{3}{4}$ partes del tubo.
- 4) Centrifugar durante 1-2 minutos para sedimentar las células.
- 5) Descartar el sobrenadante y re suspender las células inmediatamente, agitando el tubo de ensayo.
- 6) Agregar solución salina hasta la mitad del tubo
- 7) Marcar 3 tubos: A, B, AB, D.
- 8) En el tubo A una gota del reactivo anti-A, en el B una gota del reactivo anti- B, en el tubo AB una gota del reactivo anti-AB y por último en el tubo D una gota del reactivo anti-D.

- 9) Agregar a cada tubo una gota de la suspensión de células al 5% de los eritrocitos a evaluar.
- 10) Centrifugar 15 segundos a 3400 RPM.
- 11) Desprender el botón de células del fondo del tubo con movimientos suaves y leer sobre la lámpara de lectura buscando aglutinación.
- 12) Anotar los resultados de cada reacción, la cual debe de ser cuantificada en cruce.

Técnica de centrifugación inmediata para el D^u

- 1) Preparar una suspensión de células al 2-5%, con eritrocitos lavados una vez con solución salina al 0.9%.
- 2) Marcar un tubo como D y otro tubo como C (Rh control).
- 3) Colocar en el tubo marcado D, 1 gota de Anti-D y en el tubo marcado C, 1 gota de Rh control.
- 4) Agregar a cada tubo una gota de suspensión de células al 2-5%.
- 5) Mezclar y centrifugar 15 segundos.
- 6) Observar sobre la lámpara de lectura la presencia o ausencia de aglutinación y/o hemolisis.
- 7) Interpretar y anotar los resultados.

Técnica del agregado de albumina

- 1) Agregar 1 gota de suspensión de células al 2-5% a 1 gota de Anti-D.
- 2) Agregar 1 gota de suspensión de células al 2-5% a 1 gota de Rh control.
- 3) Mezclar e incubar a 37°C durante 45-60 minutos.
- 4) Agregar una gota de albumina por la pared del tubo para no dispersar los glóbulos rojos sedimentados.
- 5) Incubar a 37°C durante 15 minutos.
- 6) Centrifugar 15 segundos y leer los resultados.
- 7) Interpretar y anotar los resultados.

Interpretación

Aglutinación en D: presencia de antígenos D, la persona es Rh D positivo.

Ausencia de aglutinación en D: la persona no posee antígenos D, por lo tanto debe de realizar la prueba del D^u.

El Rh control siempre debe producir una reacción de aglutinación negativa, si resulta positivo, la prueba no es válida. Investigar la causa, esta puede ser debida a: eritrocitos sensibilizados, presencia de anticuerpos fríos o proteínas anormales.

Técnica del D^u

Para esta prueba pueden utilizarse los tubos en los cuales se realizó la prueba con anti-D inicialmente, siempre que así lo indiquen las instrucciones del fabricante. En este caso, empezar directamente en el paso número 4 de método descrito a continuación, después de anotar el anti-D inicial como negativo.

Procedimiento

- 1) Colocar 1 gota de antisuero anti-D en un tubo limpio y rotulado.
- 2) Colocar 1 gota del reactivo de control correspondiente en un segundo tubo rotulado.
- 3) Añadir a cada tubo 1 gota de suspensión al 2-5% en solución salina de los hematíes problema. Es permisible utilizar una PAD en las células de prueba como control, pero es preferible el procedimiento antiglobulina indirecto con reactivo control Rh, ya que asegura q estén representados todos los componentes del reactivo que podrían causar un resultado falso positivo.
- 4) Mezclar e intubar los 2 tubos en baño María a 37°C por 15-30 minutos, centrifugar 15 segundos y leer en busca de aglutinación. Si el resultado anotar como D+. No es necesario continuar la fase de antiglobulina.
- 5) Si los eritrocitos problema no se aglutina o muestran una aglutinación dudosa, lavar los tubos 3-4 veces con solución salina. Después del lavado final decantar totalmente la solución salina y secar los bordes de los tubos.

- 6) Agregar a cada tubo 1-2 gotas de antiglobulina humana, según las indicaciones del fabricante.
- 7) Mezclar suavemente y centrifugar por 15 segundos.
- 8) Resuspender suavemente el sedimento de hematíes y leer sobre la lámpara de lectura buscando aglutinación.
- 9) Interpretar y anotar los resultados.
- 10) Si el resultado es negativo la reacción debe confirmarse agregando 1 gota de células control Coombs (hematíes sensibilizadas con IgG), centrifugar 15 segundos y volver a examinar en busca de aglutinación. La aparición de una aglutinación en este punto confirma la presencia de antiglobulina humana activa en la mezcla de la prueba.

Interpretación

Los eritrocitos que poseen la variante D^u se consideran Rh positivos. La aglutinación en el tubo anti-D y la ausencia de aglutinación en el tubo control indican un resultado positivo.

I) Estadístico utilizado para la Correlación entre ambas técnicas.

Se utilizó la siguiente fórmula para conocer estadísticamente la correlación entre la Técnica en Tubos y La Técnica de Microtipificación en Gel.

Medidas de concordancia. (Molinero L., 2001)

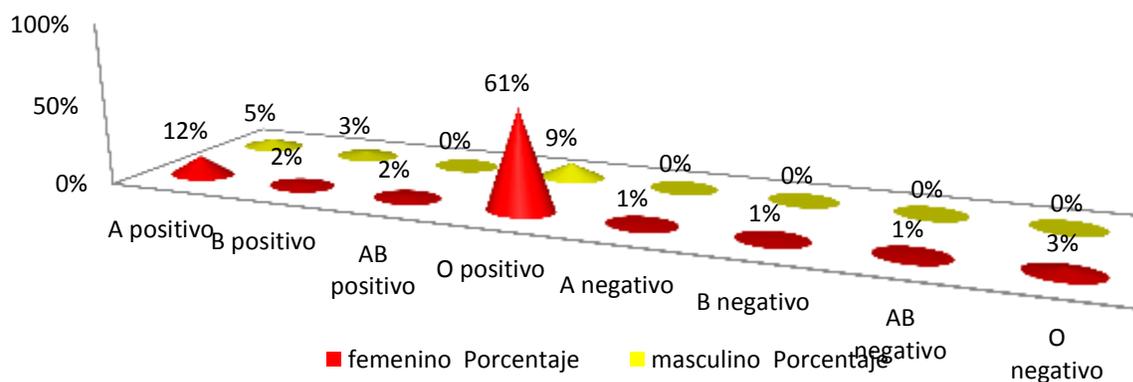
		Método en Gel		
		Positivo	Negativo	
Método en Tubo	Positivo	a	b	f1
	Negativo	c	d	f2
		c1	c2	n

VIII. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variables	Sub- variables	Indicadores	Valores	Criterios
Edad y Sexo de los pacientes	Edad (en años)	-	15-24 25-34 35-44 45-54 55-64 65-74	-
	Sexo	-	Masculino Femenino	-
Frecuencia de Grupos Sanguíneos	ABO	A B AB O	Si – No	-
	Rhesus (D)	Positivo Negativo	Si – No	-
Resultados obtenidos en ambas Técnicas	Técnica de Aglutinación en tubo	Presencia de aglutinación Ausencia de aglutinación	Positivo Negativo	4+ 3+ 2+ 1+ -/+ Negativo
	Técnica de Micro tipificación en Gel	Presencia de aglutinación Ausencia de aglutinación	Positivo Negativo	4+ 3+ 2+ 1+ -/+ Negativo

IX. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Gráfico 1. Distribución de los grupos sanguíneos ABO y Rhesus según Sexo de las personas que asistieron a la consulta externa del Hospital Solidaridad en el periodo de Julio - Noviembre 2014.



Fuente: Tabla 1

Con respecto al sexo los resultados más predominantes corresponden al género femenino con 83 casos que corresponde al 83% y para el sexo masculino con un menor porcentaje de 17%. Cabe mencionar que el sexo con mayor número de casos fue el sexo femenino con 83 pacientes y el sexo masculino 17 pacientes.

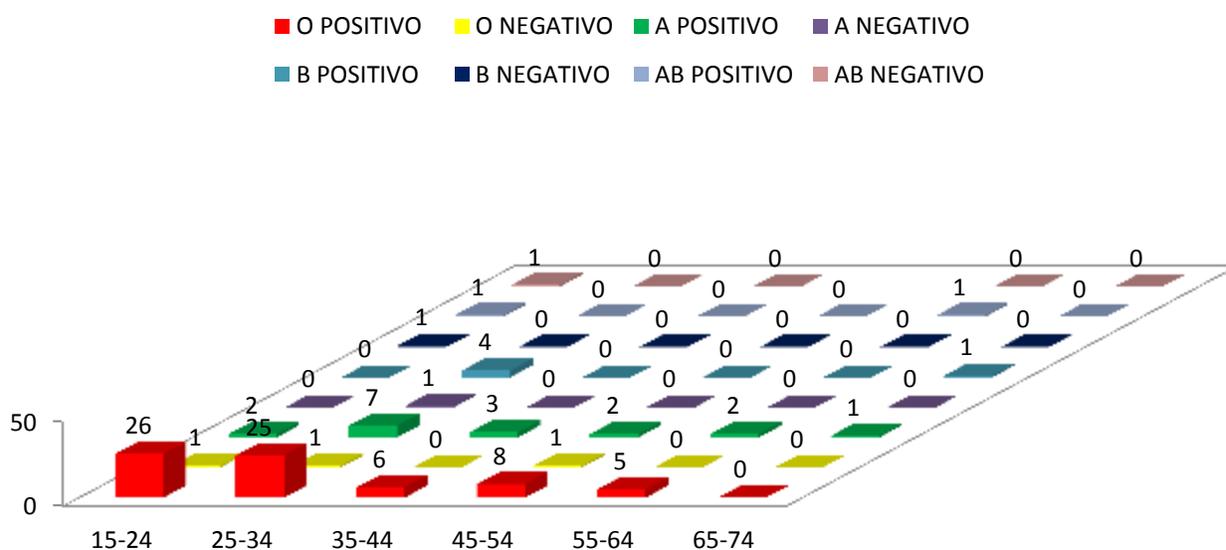
Al clasificar los pacientes en diferentes grupos sanguíneos según el sexo se obtuvo que los del grupo O positivo y A positivo fueron el de mayor frecuencia para ambos sexo, el de menor frecuencia para el sexo femenino fueron los grupo A, B, AB negativos, y para el sexo masculino los grupos sanguíneos AB positivo, A, B, AB, y el O negativo.

Cabe mencionar que la probabilidad de heredar un grupo sanguíneo determinado no está influenciada por el sexo, la probabilidad de que un grupo sanguíneo

específico sea heredado por un hombre o una mujer es la misma, debido a que estos siguen un patrón de herencia autosómica según las leyes de Mendel, desde el punto de vista estadístico por juegos del azar, se ha observado una ligera variación en la proporción de cada grupo en varones y mujeres. (Vásquez-Mora G., 2002).

Hay que recalcar que desde el punto de vista estadístico hospitalario, se ha observado mayor asistencia de los pacientes del sexo femenino que la del sexo masculino, lo cual también es característica de las personas atendidas en el Hospital Solidaridad que recepciona a personas aseguradas del Instituto Nicaragüense de Seguro Social (INSS).

Gráfico 2. Distribución de los grupos sanguíneos ABO y Rhesus según Edad de las personas que asistieron a la consulta externa del Hospital Solidaridad en el periodo de Julio - Noviembre 2014.

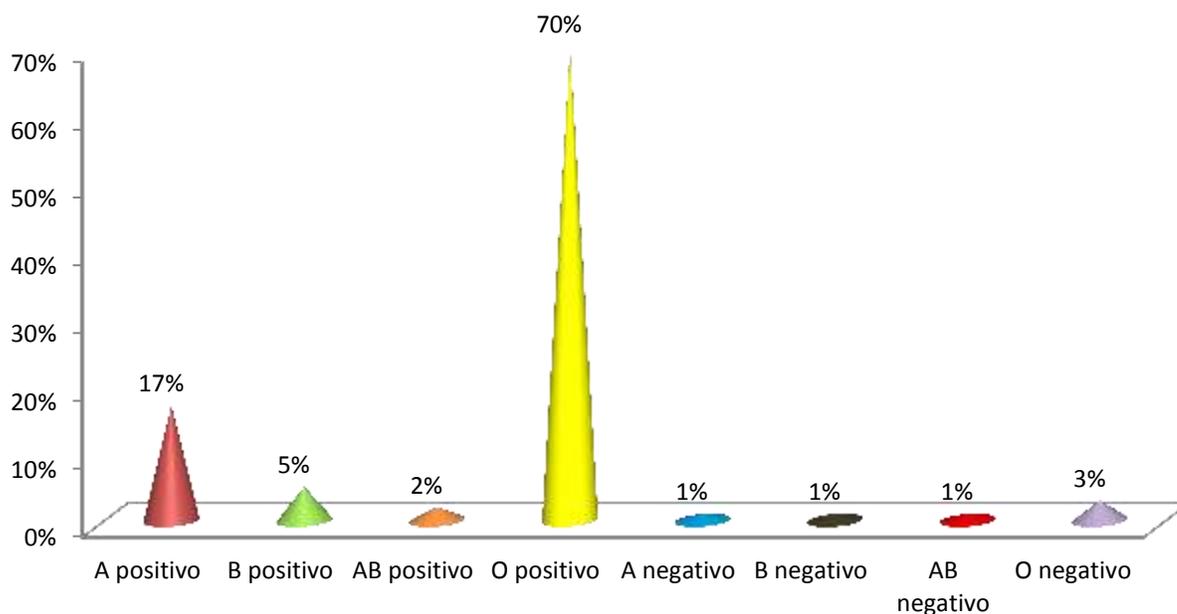


Fuente: Tabla: 2

En cuanto a la edad, los rangos en los cuales se observó la mayor y menor distribución de los grupos sanguíneos fueron de 15-24 años con 32 casos con una frecuencia del 32% de los cuales se distribuyeron de la siguiente manera 26 personas del grupo O positivo, 1 del grupo O negativo, 2 personas del grupo A

positivo, 1 para los del grupo B, AB, negativo y AB positivo, el rango de la edades de 25-34 años fueron 38 casos con el 38%, 25 personas del grupo O positivo, 1 del grupo O negativo, 7 personas del grupo A positivo, 1 para los del grupo B, 4 personas del AB positivo, 35 -44 años 9 casos con 9%, 6 personas del grupo O positivo, 3 personas del A positivo, 45-54 años 11 casos con el 11%, 8 personas del grupo O positivo, 1 del grupo O negativo, 2 personas del grupo A positivo, 55-64 años 8 casos con un 8%, 5 pertenecientes al grupo O positivo, 2 al grupo A positivo y uno al grupo AB positivo y por ultimo de 65- 74 años 2 casos para una frecuencia del 2%, 1 A positivo y 1 B positivo. La mayor frecuencia de grupo sanguíneo por edad se encuentra entre las edades de 15- 24 años y de 25 – 34 años de edad, y de menor frecuencia las edades de 55 – 64 años y 65 – 74 años.

Gráfico 3. Frecuencia de grupos sanguíneos ABO y Rhesus de pacientes que asistieron a la consulta externa en el Hospital Solidaridad en el periodo de Julio - Noviembre 2014.



Fuente: Tabla 3

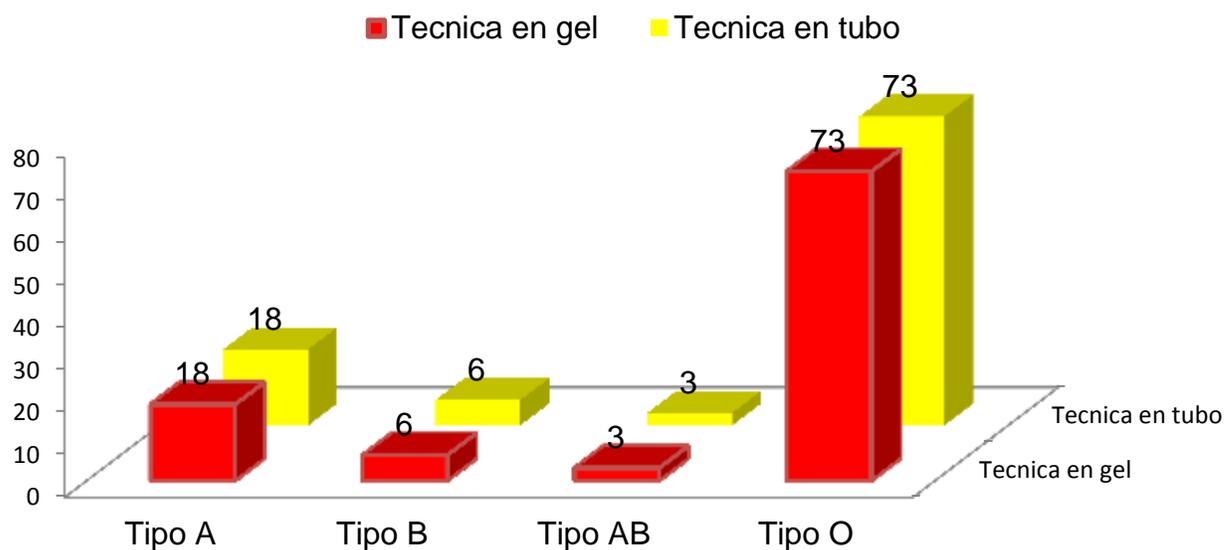
En el gráfico se observan los resultados obtenidos de la frecuencia de grupos sanguíneos ABO y Rh (D), en cuanto al grupo sanguíneo de mayor frecuencia fue el O positivo con 70 casos que equivale al 70% de las personas en estudio, en segundo lugar con 17 casos que corresponde al 17% el grupo A positivo, seguidamente el grupo B positivo con 5 casos con un porcentaje del 5%, O negativo con 3 casos para un 3%, por último 2 casos del AB para un porcentaje del 2%, los grupo A, B, AB, negativo fueron 1 casos para obtener un porcentaje del 1%.

En cuanto al grupo con mayor frecuencia de las personas que asistieron a la consulta externa del Hospital Solidaridad fue el grupo O positivo y el de menor frecuencia en la población fueron los del grupo A, B, AB negativo.

Cabe señalar que el grupo O es uno de los grupos sanguíneos que más predomina en la población ya que a pesar de ser recesivo se expresa con más frecuencia que los demás alelos. El de menor frecuencia son los del grupo B, a pesar de ser dominante es un alelo muy escaso en la población por eso es más difícil que se exprese.

Según los resultados obtenidos en el Hospital Solidaridad se correlación con datos encontrados en la literatura a nivel mundial y también con los de Gonzales de Prada, los cuales indican que los grupo sanguíneos de mayor frecuencia son: O positivo, siguiéndole el A positivo, luego el B positivo, sin embargo, los otros grupos sanguíneos AB positivo, A negativo, B negativo, AB negativo y O negativo son de menor frecuencia en la población.

Gráfico 4. Comparación de la Técnica de Aglutinación en Tubo con la Técnica de Micro tipificación en Gel para la determinación de los grupos Sanguíneos ABO de pacientes atendidos en el Hospital Solidaridad en el periodo de Julio – Noviembre 2014.



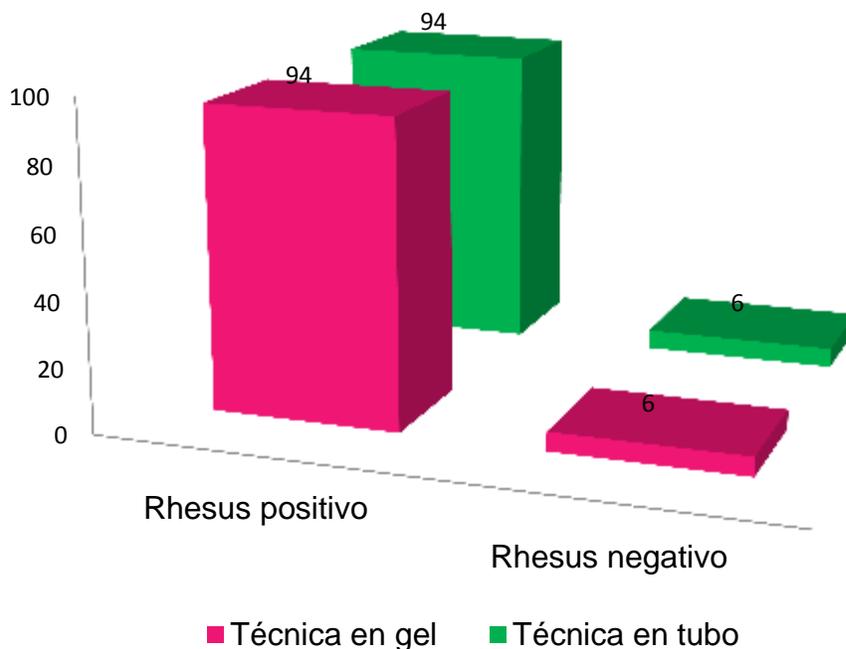
Fuente: Tabla 4

En el gráfico se observa resultados obtenidos en ambas técnicas para la clasificación del sistema ABO, los cuales indican que el grupo de mayor prevalencia en ambas técnicas fue el O con 70 casos para un porcentaje del 70%, en segundo fue el grupo A con 18 casos para un 18%, el grupo B con 6 casos que equivale a un 6% y por último el grupo AB con 3 casos para un 3%.

La correlación entre los resultados de ambas técnicas con respecto a los grupos sanguíneos es excelente, ambos resultados fueron el mismo, decimos que la tecnología en gel nos permite comprobar la exactitud de la prueba y por lo tanto es de mayor beneficio para los paciente; esta nueva tecnología revolucionó el trabajo completamente en cuanto a tiempo, optimización de recursos y en dar unos resultado más confiables para nuestros pacientes, además minimiza los errores en los procedimientos; en cambio la técnica en tubo el procedimiento para la determinación de sistema ABO es más largo el tiempo, requiere la utilización de más materiales y ocupa mucho espacio, se da más los errores, requiere la utilización de más personal.

En cuanto al cálculo estadístico, al aplicar la fórmula de concordancia los resultados correspondieron a 1, que al Grado del Índice de kappa propuesto por Landis y Koch corresponde a Muy Bueno. En caso de concordancia perfecta el valor de kappa es 1, si la concordancia observada es igual a la esperada vale 0, y en el caso de que sea inferior al esperado el índice kappa es menor que cero (Molinero L., 2001).

Gráfico 5. Comparación de la técnica de aglutinación en tubo con la técnica de micro tipificación en gel para la determinación del sistema Rhesus de pacientes atendidos en el Hospital Solidaridad en el periodo de Julio – Noviembre 2014.



Fuente: Tabla 5

El gráfico presenta los resultados obtenidos en ambas técnicas para la clasificación del grupo Rhesus (D), los cuales indican mayor predominio del grupo Rh (D) positivo con un total de 94 casos correspondientes al 94% y en menor frecuencia el Rh (D) negativo con 6 casos para un 6%.

La correlación entre los resultados de ambas técnicas con respecto al sistema Rhesus fue excelente debido a que en ambas técnicas obtuvimos los mismos resultados, una de las ventajas de la tarjeta en gel en relación con la técnica en tubo es su sensibilidad ya que puede aumentar hasta 1000 veces la afinidad entre antígeno y anticuerpo, bien que en la técnica en gel se utiliza la solución salina de baja potencia iónica en cambio en la técnica en tubo se utiliza solución salina al 0.9%, la cual es una desventaja del método ya que los anticuerpos de baja afinidad pueden perderse con los lavados.

La detección óptima del sistema Rhesus (D) es muy importante, debido a que el antígeno D es altamente inmunogénico y estimula la producción de anti-D. Los anticuerpos Anti-D tienen importancia considerable ya que pueden originar la severa enfermedad Hemolítica del Recién Nacido (HDN) y reacciones hemolíticas transfusionales. El antígeno D y la forma débil del antígeno D (denominado Du) son comúnmente considerados en la selección rutinaria de sangre para transfusión.

X. CONCLUSIONES

1. En relación al sexo, el femenino fue el de mayor frecuencia con 83%, y el masculino el de menor frecuencia con 17%. El grupo etario de mayor frecuencia fueron las edades comprendidas entre 25–34 años con 38% y 15-24 años con 32%, las edades de menor frecuencia fueron las de 65 – 74 años con el 2%.
2. La frecuencia de grupos sanguíneos ABO y Rh (D) fue la siguiente: O positivo con 70%, A positivo 17%, B positivo 5%, O negativo 3%, AB positivo 2% y A negativo, B negativo, AB negativo con el 1% cada uno respectivamente.
3. La correlación de las pruebas utilizadas en la determinación de los sistemas ABO y Rhesus fue excelente, debido a que en ambas técnicas se logró obtener los mismos resultados.

XI. RECOMENDACIONES

1. Recomendamos a los técnicos cumplir obligatoriamente con el protocolo de trabajo que va desde la identificación de la muestra y datos del paciente hasta transcribir los resultados al libro de registro de bancos de sangre para la entregar resultados.
2. Tener todas los reactivos y tarjetas para realizar todas las pruebas al momento de encontrar una discrepancia ya sea en adultos o bebés.
3. Realizar lavados correspondientes en casos de trabajar con recién nacidos y bebé a los cuales solo se le realiza la prueba directa no pudiéndola correlacionar con la prueba inversa.
4. Al responsable del área de Inmunohematología se recomienda manejar el manual de procedimientos técnicos en caso de no tener un reactivo comercial.

XII. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- 1) Asociación Americana de Banco de Sangre (AABB 2007). Manual técnico 15^a edición.
- 2) Cartron JP., Rue A., (2000) Rh Red Blood Groups and Molecular basis of Rh deficiency. Baillière's Clinical Hematology, Ed Beha. New York, USA; Vol 12: N. 4 pp. 485-486.
- 3) Dávila Ma. (2012). Folleto de Inmunohematología Básica, Managua, Nicaragua.
- 4) Dávila M. (2013). Manual de Guías de Laboratorio, Inmunohematología Básica. Managua, Nicaragua.
- 5) Franco E. (1998) 2da edición micro placas su aplicación en Inmunohematología Básica banco de sangre.
- 6) Gryt y Hall décima 2da edición Fisiología Medica.
- 7) Grispan, S. (1933) "Grupos sanguíneos ABO y Rh" revista médica de Honduras volumen 51 -3.
- 8) Huang CH., Lui PZ., & Cheng JG., Molecular Biology and Genetics of the Rh Blood Group System. Ed Seminars, Miami Florida, pp. 150-165.
- 9) Janotpour KA., Kalmin ND., Jensen HM., Holland PV.,(2008) Clinical outcomes of ABO – Incompatible RBC transfusions. Am J clin pathol; 129: 276 – 281.
- 10) Maroto, R, (28 de marzo de 2007) "Los grupos sanguíneos".
- 11) Madlon – Kay DJ. (1983). The clinical significance of ABO blood group incompatibility. Arch Fam Med 2; 285 – 287.

- 12) Márquez R. (2008). Referencia Electrónica Recuperado de: <https://es.scribd.com/doc/1028985/> manual – completo de inmunohematología.
- 13) Molinero L. (2001). Medidas de Concordancia para variables cualitativas. Recuperado de internet. Artículo en formato PDF.
- 14) Race RR., Sanger R., (2002) The Rh Blood Groups. Blood groups in man. Blackwell 6ta. Ed. Oxford, pp. 178.
- 15) Rowley SD., Liang PS.,Uiz L., (2000); transplantation of ABO – incompatible bone marrow and peripheral blood stem cell components bone marrow transplant 26: 749 – 757.
- 16) Salvatierra V. (2009). Referencia Electrónica Recuperado de: <http://www.slideshare.net/norasalvatierra/otros-sistemas-sanguineos>
- 17) Stussi G., West L., Cooper Dk., (2006) Seebach JD. ABO- Incompatible allo transplantation as a basis for clinical xenotransplantation; 13: 390 – 390.
- 18) Warner PR., Nester TA.,(2006) ABO – incompatible solidorgan transplantation. Am J clin pathol; 125 supple: s 87 - 94.

ANEXOS

ANEXO 1

TABLAS

Tabla 1. Distribución de grupos sanguíneos ABO y Rhesus según sexo de las Personas que asistieron a la consulta externa del Hospital Solidaridad en el periodo de Julio – Noviembre 2014.

Grupos Sanguíneos	Sexo			
	Femenino		Masculino	
	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia	Porcentaje
A positivo	12	12%	5	5%
B positivo	2	2%	3	3%
AB positivo	2	2%	0	0%
O positivo	61	61%	9	9%
A negativo	1	1%	0	0%
B negativo	1	1%	0	0%
AB negativo	1	1%	0	0%
O negativo	3	3%	0	0%
Total	83	83%	17	17%

Tabla 2. Distribución de grupos sanguíneos ABO y Rhesus según Edad de las personas que asistieron a la consulta externa del Hospital Solidaridad en el periodo de Julio - Noviembre 2014.

Edades en años	O +	O -	A +	A -	B +	B -	AB +	AB -
15-24	26	1	2	0	0	1	1	1
25-34	25	1	7	1	4	0	0	0
35-44	6	0	3	0	0	0	0	0
45-54	8	1	2	0	0	0	0	
55-64	5	0	2	0	0	0	1	0
65-74	0	0	1	0	1	0	0	0

Tabla 3. Frecuencia de grupos sanguíneos ABO y Rhesus de personas que asistieron a la consulta externa en el Hospital Solidaridad en el periodo de Julio - Noviembre 2014.

Grupos Sanguíneos y Rhesus	Frecuencia	Porcentaje
A positivo	17	17%
B positivo	5	5%
AB positivo	2	2%
O positivo	70	70%
A negativo	1	1%
B negativo	1	1%
AB negativo	1	1%
O negativo	3	3%
Total	100	100%

Tabla 4. Comparación de la técnica de aglutinación en tubo con la técnica de micro tipificación en gel para la determinación de los grupos Sanguíneos ABO de pacientes atendidos en el Hospital Solidaridad en el periodo de Julio – Noviembre 2014.

Métodos	Resultados				Total
	Tipo A	Tipo B	Tipo AB	Tipo O	
Técnica en gel	18	6	3	73	100
Técnica en tubo	18	6	3	73	100

Tabla: 5 Comparación de la técnica de aglutinación en tubo con la técnica de micro tipificación en gel para la determinación del sistema Rhesus de pacientes atendidos en el Hospital Solidaridad en el periodo de Julio – Noviembre 2014.

Métodos	Rhesus positivo	Rhesus negativo	Total
Técnica en gel	94	6	100
Técnica en tubo	94	6	100

ANEXOS 2

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA, MANAGUA



INSTITUTO POLITECNICO DE LA SALUD

“LUIS FELIPE MONCADA”

UNAN- MANAGUA



La presente ficha tiene como finalidad recolectar los datos obtenidos de tipificación ABO y sistemas Rhesus en pacientes que asisten a la consulta externa en el Hospital Solidaridad en el periodo Julio – Agosto 2014.

Ficha N° _____

I. Datos Primarios

Fecha _____

Sexo: F M Edad: _____

Código de la muestra _____

Grupo sanguíneo:	A Positivo	<input type="checkbox"/>	A Negativo	<input type="checkbox"/>
	B Positivo	<input type="checkbox"/>	B Negativo	<input type="checkbox"/>
	O Positivo	<input type="checkbox"/>	O Negativo	<input type="checkbox"/>
	AB Positivo	<input type="checkbox"/>	AB Negativo	<input type="checkbox"/>

Resultado: _____

Firma Investigadora



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA, MANAGUA

INSTITUTO POLITECNICO DE LA SALUD

“LUIS FELIPE MONCADA”

UNAN- MANAGUA



HOJA DE RESULTADOS

Se utilizara para plasmar los datos obtenidos para la tipificación ABO y sistemas Rhesus en pacientes que asisten a la consulta externa en el Hospital Solidaridad en el periodo Julio – Agosto 2014.

Tipo y Rh

N ^o Mx	Prueba Directa						Prueba Inversa			Grupo ABO y Rh
	Anti- A	Anti- B	Anti- AB	Anti- D	Rh Control	Ag(s)	Cels A1	Cels B	AC(s)	
1										
2										
3										
4										

Interpretación de los resultados _____

I. Observaciones: _____

Firma Investigador

Cuadro 1. Gradiente de las aglutinaciones

INTENSIDAD DE LA REACCIÓN	SCORE O PUNTAJE	TUBO/MICROPLACA AGLUTINACIÓN	AGLUTINACION EN GEL
4+	12	Botón único. Fondo claro. Sin células libres	Banda homogénea de aglutinación en la parte superior de la columna
3+	10	Varios aglutinados de gran tamaño. Fondo claro sin células libres	Banda superior de aglutinado y desplazamiento en la parte superior de la columna.
2+	8	Muchos aglutinados de mediano tamaño. Fondo claro sin células libres.	Aglutinados pequeños en la columna y a lo largo de la columna.
1+	5	Numerosos aglutinados pequeños. Fondo turbio por GR libres.	Algunos aglutinados pequeños en la Columna.
+/-	2	Apenas la aglutinación es visible. Fondo turbio por GR libres.	Escasos aglutinados de pequeño tamaño en la columna.
0	0	Ausencia de aglutinación	Banda de GR al fondo de la columna, resto de la columna sin aglutinados.

ANEXO 3

FIGURAS

Figura 1. Esquemas gráficos que representan la Técnica en Láminas empleadas para la determinación del Sistema ABO Y Sistema Rhesus.

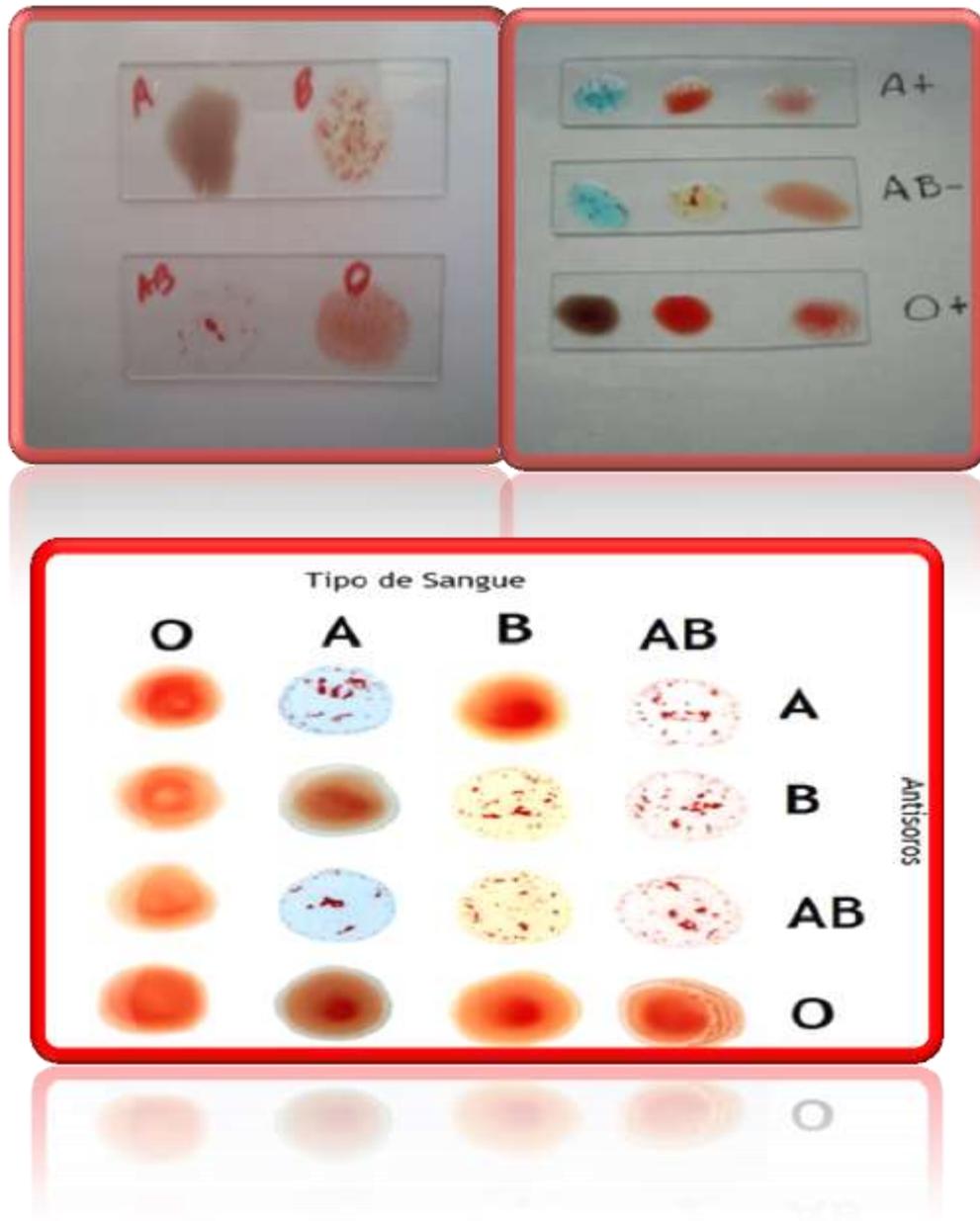


Figura 2. Representación gráfica de la Técnica en Tubos para determinar los Grupos sanguíneos ABO y Rhesus (D).

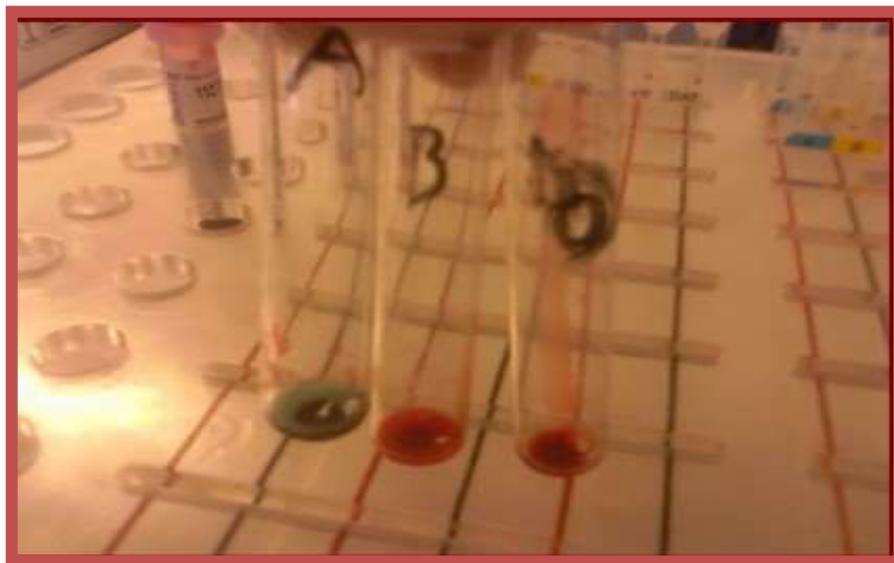
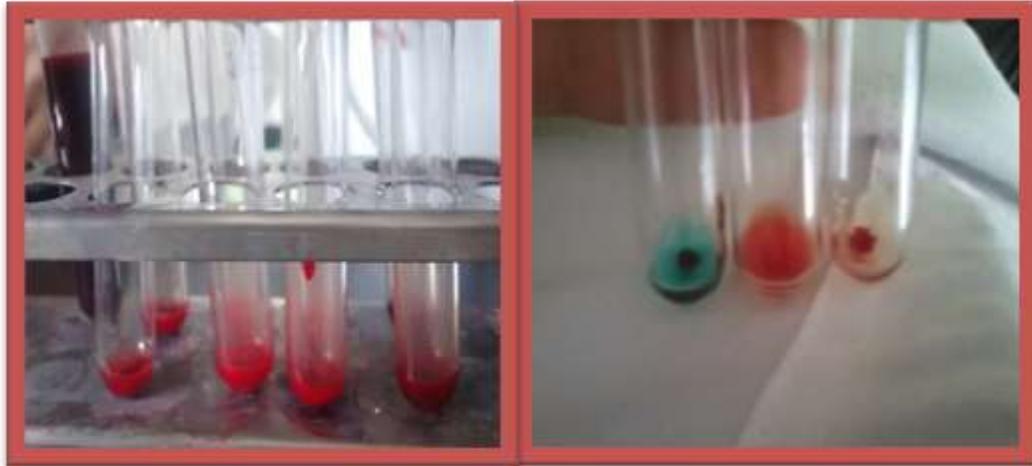


Figura 3. Esquemas gráficos que representan la Técnica en Micro placas empleadas para la determinación del Sistema ABO y Sistema Rhesus.

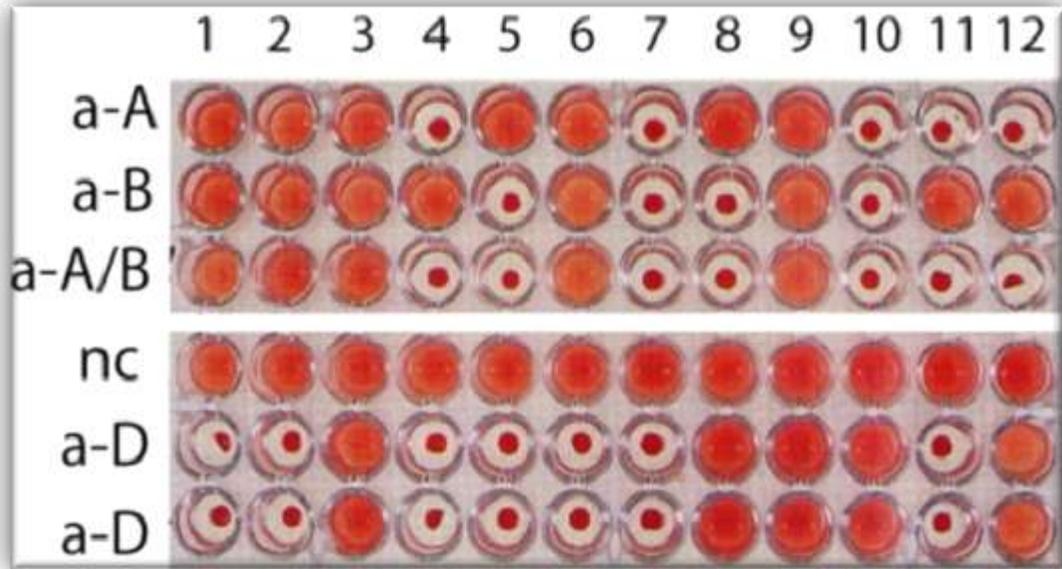


Figura 4. Representación gráfica de las Tarjetas de la Técnica de Micro – tipificación en Gel para determinar los grupos sanguíneos ABO y Rhesus (D).

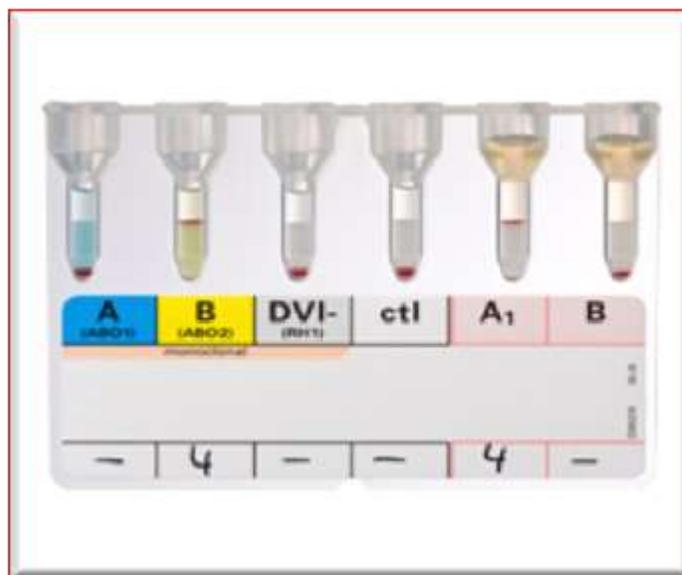


Figura 5. Representación gráfica de los equipos utilizados en la técnica de Microtipificación en Gel.



Incubadora para Tarjetas de Gel



Centrífuga para Tarjetas de Gel

Figura 6. Representación gráfica de muestras y células de trabajo utilizadas en la Técnica de Microtipificación para la determinación de los grupos sanguíneos ABO y Rhesus (D).

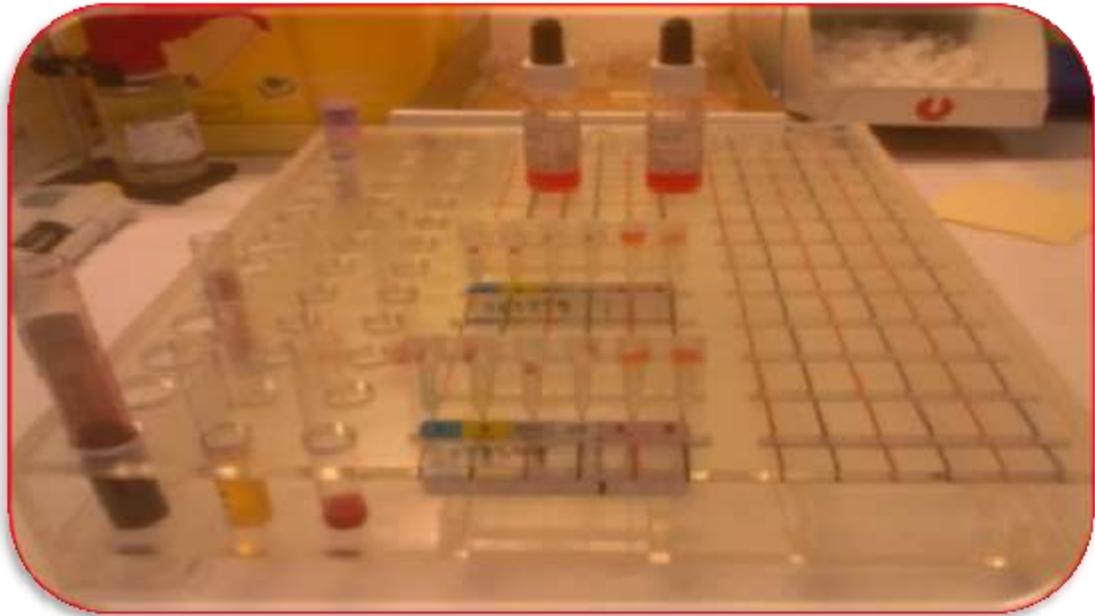


Figura 7. Representación gráfica de la Técnica en Tubos. Reactivos utilizados para la Tipificación de los grupos sanguíneos ABO y Rhesus (D) y Resultados de la Prueba.



Figura 8. Fotografías representativas del procesamiento de las muestras realizado por las investigadoras en el Hospital Solidaridad.



Montaje de las muestras



Incubación y Centrifugación



Lectura e Interpretación de los Resultados