



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
ZARAGOZA**

**ESTUDIO COMPARATIVO EN LA INVESTIGACION
DE ANTICUERPOS IRREGULARES ANTIERITROCITOS
EN DONADORES CON Y SIN ANTECEDENTES
TRANSFUSIONALES Y/O EMBARAZOS DEL BANCO
DE SANGRE DEL H. REG 20 DE NOVIEMBRE**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A ;
AGUILA FLORES TOMASA ADRIANA**



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

	PAGINA
INTRODUCCION	1
DATOS HISTORICOS	5
LA REACCION ANTIGENO ANTICUERPO EN INMUNOHEMATOLOGIA	8
GRUPOS SANGUINEOS: SISTEMA ABO, Rh Y OTROS	17
HERENCIA DE LOS GRUPOS SANGUINEOS	35
FUNDAMENTACION DE LA ELECCION DEL TEMA	42
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	43
OBJETIVO	44
HIPOTESIS	45
MATERIAL	46

	PAGINA
METODO	47
RESULTADOS	56
INTERPRETACION DE RESULTADOS	69
RESULTADOS ESTADISTICOS	72
DISCUSION DE RESULTADOS	76
CONCLUSIONES	80
BIBLIOGRAFIA	82

INTRODUCCION

La transfusión sanguínea es la terapéutica que restituye los componentes sanguíneos deficientes en el paciente a causa de hemorragias y traumatismos graves, problemas de coagulación y anemias, transfundiendo en cada caso el componente necesario claramente establecido.

La decisión de usar la terapia transfusional requiere de una estimación precisa de los riesgos asociados con su empleo, una comprensión básica de la fisiopatología del trastorno sometido a tratamiento para identificar la deficiencia y el conocimiento de la estabilidad "in vitro" y supervivencia "in vivo" de los componentes sanguíneos para su recolección, almacenamiento y manejo adecuado es indispensable.

La transfusión de paquete eritrocitario es lo más importante, porque mas del 80% de las transfusiones se efectuan con este componente, para restituir la capacidad portadora de oxígeno, evitando el uso de sangre total que puede ocasionar aloimmunización al paciente por transfusión de componentes hemáticos innecesarios, y sobrecarga circulatoria.

El uso de la sangre total queda limitado para pérdidas rápidas de volumen sanguíneo como en el caso de hemorragias graves por traumatismo o acto quirúrgico.

(1)

La transfusión sanguínea presenta como cualquier otro trasplante, riesgos para el paciente que pueden ser de origen inmunitario o no inmunitario.

Las reacciones inmunológicas son producidas por anticuerpos y van dirigidos contra antígenos eritrocitarios, leucocitarios o plaquetarios, ocasionando hemólisis extravascular y/o intravascular de grado variable, así como leucopenia o plaquetopenia.

Las reacciones inmunológicas comprenden transmisión de infecciones, sobre todo hepatitis, sobrecarga circulatoria que provoca edema pulmonar, transfusión masiva que ocasiona acidosis, fibrilación ventricular causada por hipotermia en la transfusión abundante de sangre.

(4)

Los anticuerpos regulares naturales son [IgM] activos en un amplio margen de temperatura, desde 0°C, hasta 37°C.

En transfusión sanguínea incompatible [sistema ABO] causan la destrucción de eritrocitos con hemólisis intravascular,

mientras los anticuerpos inmunes generalmente destruyen los eritrocitos incompatibles extravascularmente [sistema Rh-Hr].

Los anticuerpos irregulares son poco frecuentes y se pueden encontrar como anticuerpos hemolizantes, aglutinantes o sensibilizantes. Se evidencian a diferentes temperaturas "in vivo" y pueden requerir para su observación de medias sustacias que favorezcan su demostración como: medio de alta concentración protéica y enzimas, o pueden ser demostrados solamente con la prueba de antiglobulina humana o suero de Coombs.

Por ser estos cuerpos imprevisibles, la mayor parte de los bancos de sangre emplean técnicas de rutina combinadas para su demostración como la técnica salina, medio de alta concentración protéica y/o antiglobulina humana.

La observación de la reacción antígeno anticuerpo se lleva a cabo solo en condiciones óptimas, según la naturaleza del anticuerpo [cantidad de reactivo, técnica apropiada, etc.].

Los anticuerpos que intervienen en las reacciones eritrocitarias inmunológicas son inmunoglobulinas IgG, IgM e IgA; sus características serológicas y su patrón de destrucción "in vivo" dependen grandemente de la clase de anticuerpo a la que pertenecen, su habilidad para fijar complemento

y su título, así un anticuerpo que normalmente no tiene ningún significado en transfusión sanguínea como el anti-P [IgM] por ser un anticuerpo activo en frío, puede causar destrucción de los eritrocitos "in vivo" cuando está a un título muy elevado y es activo cerca de los 37°C.

(1,10)

DATOS HISTORICOS NACIONALES

México participó con sus trabajos de experimentación y comprobación, antes de que otros países lo intentaran siquiera. Desde los primeros periódicos en la materia se han presentado varias y bien documentadas tesis.

Los primeros nombres son los de los Doctores Francisco Marín, Guillermo Dávila, José Ma. Vertiz y José Ma. Barseló y Villagran, cuya época fué la del nacimiento en México 1920 de dicha terapéutica y la que el Doctor Felipe Aceves, llamó Primer Período o Período de sangre desfibrinada. Efectivamente pensaron homogenizar la sangre desfibrinándola para hacerla incoagulable, además no existiendo en la mente de aquellos investigadores la noción de los grupos sanguíneos el éxito, necesariamente solo lo obtuvieron en cuanto las sangres fueran compatibles, cosa por lo demás relativamente frecuente, debido al elevado porcentaje del grupo sanguíneo "O" en nuestro país. Pero como también los fracasos se presentaron la aplicación práctica de la transfusión cedió su lugar a los estudios de gabinete, más de 20 años transcurrieron para que basados en las investigaciones de Hayden,

Landsteiner se reanudara el procedimiento en la práctica.

En el estudio, último período, quizá sea el Doctor Narciso Cosío el primero y el que más fuerte impulso dió a la transfusión en 1925, tratando de resolver el problema de la coagulación construyó un dispositivo que llamó "mezclador"; en el que se ponían en contacto la sangre, el anticoagulante y suero glucosado.

El Doctor Abraham Ayala González, por su parte contribuía al progreso de esta terapéutica, practicándola con gran frecuencia, mejorando su técnica y estudiando cuidadosamente los anticoagulantes, principalmente el citrato de sodio. La primera transfusión se efectuó el 20 de septiembre de 1925 con sangre cedida por el Doctor Alfaro Trejo, quien estableció los primeros conceptos teóricos y experimentales en México sobre inmunotransfusión. A estos esfuerzos se unían los del Doctor José Aguilar Álvarez, que impuso el uso de la transfusión en los servicios hospitalarios principalmente del H. Juárez y del H. Morelos como resultado de su experiencia y de su convicción formuló "XX reglas para la Transfusión de sangre", las cuales revelan el alto valor que tuvieron en aquél tiempo y aún hoy con pocas modificaciones siguen teniendo.

De ahí en adelante es extensa la lista de médicos que de una

manera u otra contribuyeron al impulso y mejoramiento de esta terapia.

Los estudios hematológicos encaminados al esclarecimiento de problemas sobre trasfusión así como los relativos al uso de pruebas macroscópicas de compatibilidad o clasificación han sido su acervo y difundiéndose ampliamente con el aporte de numerosos médicos entre los cuales habrán de mencionarse los siguientes: Dr. Ignacio González G., Dr. Luis Gutierrez, Dr. Gerardo Varela, Dr. Luis Vargaz, Dr. Marco Antonio Brito, etc..

Como particular ejemplo de actualidad tenemos las investigaciones realizadas por hematólogos prominentes como son los Doctores: Héctor Rodríguez Moyado, Jorge Espinoza Turcot, Rolando Medina Aguilar y la Q.F.B. Elisa Quintanar de R. que han contribuido con sus esfuerzos y dedicación para el desarrollo de esta rama de la medicina.

(12)

LA REACCION ANTIGENO-ANTICUERPO EN INMUNOHEMATOLOGIA

La reacción entre el antígeno y su correspondiente anticuerpo puede producirse "in vivo" o "in vitro".

La reacción "in vivo" generalmente coincide con la entrada al organismo de antígenos extraños contra los que reacciona por intermedio de los anticuerpos en otros grupos existentes, como sucede en la reacción hemolítica transfusional por incompatibilidad ABH; o mediante la transferencia pasiva de anticuerpos como es el caso de la Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido [EHRN]. En estados de autoinmunidad, la reacción "in vivo" puede causar enfermedades tales como la anemia hemolítica autoinmune, la neutropenia inmune, etc.,

La reacción "in vitro" es de particular importancia porque ella permite que tanto los antígenos como los anticuerpos puedan ser determinados y estudiados en el laboratorio.

La naturaleza específica de estas reacciones dependen de una multitud de variables relacionadas con la clase de anticuerpos,

las condiciones de reacción y en particular con ciertas características del antígeno.

Algunos principios generales rigen la reacción antígeno-anticuerpo, entre ellos cabe señalar las siguientes:

1. Especificidad es decir que el anticuerpo solamente se une con su determinante antigénico.
2. Reaccionan las moléculas enteras, esto es que no se produce intercambio de partes o fracciones, ni se forma un nuevo producto.
3. La unión del antígeno con el anticuerpo es firme pero reversible, o sea que bajo condiciones apropiadas tanto uno como el otro se pueden recuperar sin que aparentemente hayan cambiado.
4. Es un fenómeno de superficie que no altera la estructura primaria de las partes reaccionantes.
5. Las partes reaccionantes [antígeno y anticuerpo] se combinan en proporciones variables, dependiendo de las condiciones del experimento. Esta característica es la diferencia con la reacción química en la cual, la

proporción de los elementos es siempre exacta.

6. El tiempo en que se produce la reacción es variable, a veces muy corto tomando menos de un minuto, pero que en otras circunstancias bien conocidas requiere de un tiempo mayor.

La mayoría de las reacciones antígeno-anticuerpo ocurren en dos fases o etapas: en la primera, el antígeno se combina con el anticuerpo y en la segunda, posiblemente a través de cambios electroquímicos y de atracción entre fuerzas moleculares con cargas eléctricas positivas y negativas se producen complejos antígeno-anticuerpo.

Las fases generalmente se superponen en tiempo, pero en la que se forman los complejos antígeno-anticuerpo la reacción se hace visible.

Las siguientes reacciones "in vitro" han sido aplicadas para demostrar la reacción antígeno-anticuerpo en el campo de la inmunohematología:

-Aglutinación

-Hemólisis

- Inhibición
- Absorción
- Precipitación
- Fijación de complemento
- Radioinmunoensayo
- Fluorescencia
- Enzima inmunoensayo

FACTORES QUE AFECTAN LA REACCION Ag-Ac

Para poder detectar una incompatibilidad hay que tomar en cuenta diferentes factores que afecten la reacción antígeno-anticuerpo, en nuestro caso es la aglutinación de eritrocitos mediante la cuál se manifiesta dicha reacción, esta constituye actualmente el fenómeno mas importante y mas ampliamente observado en el agrupamiento de los grupos sanguíneos, llevandose a cabo en dos etapas [mencionadas anteriormente] .

Entre los factores que afectan la reacción antígeno-anticuerpo tenemos :

a) Antígeno

Para lograr una mayor reactividad de los eritrocitos y

evitar falsos positivos o negativos, hay que seleccionar y cuidar los siguientes factores :

- 1] Efecto de dosis . el que se define como la diferencia de un estado homocigoto y un heterocigoto. Esto es cuando un individuo es homocigoto para algun grupo sanguineo en particular [hereda el mismo gen de un par de alelos de cada progenitor], aparece una doble dosis del antígeno resultante sobre el eritrocito en contraste con la dosis individual de antígeno que proviene del heterocigoto.

Los eritrocitos con "dosis unica y dosis doble" pueden distinguirse a veces en pruebas de titulación contra anticuerpos seleccionados los hematies con doble dosis de antígeno proporcionan una mayor titulación con el anticuerpo correspondiente que aquellos con una dosis.

- 2] Edad de las células. como es de suponer las células frescas son las que reaccionan mejor, por tener el antígeno integro .
- 3] Temperatura de conservación. La reactividad de los antígenos de los eritrocitos se ve muy disminuida sino

se mantiene a temperatura adecuada. En general todas las muestras de sangre deben guardarse a una temperatura de 4°C .

b) Anticuerpo.

En el laboratorio de rutina es común observar variaciones en las reacciones de antígeno-anticuerpo, las cuales en gran parte dependen de las características propias de cada anticuerpo, así como también, en caso de los anticuerpos [antiseros] comerciales, de acuerdo a la forma de elaboración de cada fabricante hay que tomar en cuenta las recomendaciones de cada producto para lograr una óptima reacción y evitar reacciones falsas negativas.

Las características de los anticuerpos que se deben considerar:

- 1) Avidéz. Definida como la rapidéz con que un antígeno se combina y se estabiliza con un anticuerpo correspondiente. La avidéz del anticuerpo debe ser alta, es decir, que este reaccione rápidamente en cantidades adecuadas de eritrocitos para producir la primera etapa de la aglutinación [sensibilización].

- 2] Título. El título o valor de titulación se expresa como el recíproco de la dilución más alta del suero capaz de producir aglutinación observable de los eritrocitos apropiados.

La evaluación de los títulos nos representan la potencia de los anticuerpos mediante su titulación.

- 3] Conservación. De acuerdo a las propiedades fisicoquímicas de los anticuerpos, tenemos que los anticuerpos son moléculas lábiles, por lo cual los anticuerpos se deben mantener a -30°C .

FACTORES QUE AFECTAN LAS REACCIONES ANTIGENO-ANTICUERPO

- a] La temperatura va a influir en la reacción antígeno-anticuerpo, considerando el tipo de anticuerpo [IgM ó natural, IgG ó inmune] que está tomando parte de alguna reacción particular de la aglutinación.

- b] Tiempo de incubación. Se puede definir como el tiempo para que una cantidad equivalente de anticuerpo se una a su respectivo antígeno.

En general este tiempo es corto, puede ir desde 30 seg.

hasta 30 min. y va a depender del tipo de anticuerpo.

- c) Concentración o potencial iónico del medio de reacción. La concentración iónica es un factor importante debido a que va a disminuir el potencial Z [a una determinada concentración iónica del medio de reacción, por ejemplo, en solución salina la concentración óptima es de 0.85%] y de esta manera disminuir la distancia entre los eritrocitos permitiendo que los anticuerpos específicos reaccionen con los antígenos de superficie del eritrocito.

- d) pH. La constante de equilibrio se ve afectada por el pH, debido a esto es necesario un rango adecuado para que se lleve a cabo la reacción antígeno-anticuerpo; se ha observado que este se encuentra entre 6.7 y 7.4.

- e) Centrifugación. El objetivo es reducir el espacio que separa los hematíes entre sí, con lo cual se logra que los anticuerpos puedan cubrir este espacio y se produzca la aglutinación. La centrifugación más adecuada es de 3400 rpm. durante 15 seg.

- f) Lectura. Después de la centrifugación debe efectuarse la

lectura, donde el paquete se resuspenderá suavemente, ya que, cuando la aglutinación es débil, puede perderse y erróneamente interpretarla como "negativa". Cuando esta es débil debemos de auxiliarnos con una lupa o bien con el microscopio. Reportándose la intensidad de la aglutinación en cruces de la manera siguiente :

- 4 cruces [++++]. Un boton de eritrocitos y fondo claro.
- 3 cruces [+++] . Un grumo grande y varios grumos pequeños o varios grumos grandes y fondo claro .
- 2 cruces [++]. Varios grumos de tamaño mediano y fondo claro.
- 1 cruz [+]. Grumos pequeños y muchos eritrocitos libres con fondo turbio .
- 1/2 cruz. Escasos grumos muy pequeños con fondo turbio.
- + -. A simple vista se pueden observar como una suspensión fuerte de hematíes, pero al microscopio se encuentran aglutinadas de 4-5 células, especialmente en la periferia del campo.

(2,4,9)

GRUPOS SANGUINEOS: SISTEMAS ABO, Rh-Hr y OTROS

SISTEMA ABO.- Este sistema fué el primero en ser descubierto, (Landsteiner-1901) y sigue siendo el más importante clínicamente, ya que las personas producen en forma natural anticuerpos A y/ó B, cuando sus eritrocitos carecen de los antígenos correspondientes ó con excepción de las personas que tienen el raro fenitipo Oh (Bombay) o por alguna anomalía como la hipogamaglobulinemia.

La existencia de los antígenos A y B en los eritrocitos y la ausencia de estos en algunos, nos dá como resultado cuatro grupos sanguíneos: A, B, AB y O.

Existen además varios subgrupos de A, considerados los más importantes A_1, A_2 que aumentan los grupos sanguíneos de este sistema de cuatro a seis: $A_1, A_2, B, O, A_1B, A_2B$, (los más probables).

Los grupos sanguíneos se heredan según las leyes de Mendel por medio de genes alélicos A_1, A_2, B y O. Un hijo recibe de cada padre uno de los cuatro genes que se combinan formándose diez

genotipos que a su vez dan lugar a seis fenotipos:

Genotipo	Fenotipo
A A , A A , A O. 1 1 1 2 1	A 1
A A , A O. 2 2 2	A 2
BB, BO	B
A B 1	A B 1
A B 2	A B 2
OO	O

Los anticuerpos del sistema ABO son de origen "natural" regular, son de especificidad anti-A y anti-B formados por inmunoglobulinas del tipo IgM e IgG, que "in vitro" presentan las siguientes características aglutinantes, hemolíticas y fijadoras de complemento, la destrucción de eritrocitos "in vivo" es intravascular. El anti-A y anti-B inmune son IgG . (1,3,7,)

SISTEMA Rh-Hr.- El antígeno D [Rho] de este sistema descubierto por Landsteiner y Weiner en 1940, es el más antigénico después del A y B; esta involucrada en la EHRN y en reacciones hemolíticas severas a personas que careciendo de este factor han sido sensibilizadas al transfundirseles sangre Rh

positiva o por estímulo de embarazo.

Este sistema es uno de los más estudiados, consta de varios antígenos que forman un mosaico al que se le han asignado varias nomenclaturas siendo la de Weiner y la de Race-Fisher las más utilizadas, dentro del mosaico el antígeno que presenta mayor antigenicidad es el D siguiéndole en importancia el \bar{C} .

Para efectos de pruebas transfusionales se divide a la población en individuos que presentan el factor D [Rho], y los que carecen de él, existe un tercer grupo que no tiene completo el mosaico de antígenos y se le denomina D^u , considerando a este como donador Rho [D] positivo y como receptor Rho [D] negativo .

Los anticuerpos de este sistema son de origen inmune irregulares, generalmente son inmunoglobulinas del tipo IgG, sus características serológicas "in vitro" son: sensibilizantes, activas a 37°C y medio óptimo de acción con antiglobulina humana, la destrucción eritrocitaria "in vivo" es extravascular predominando en el bazo.

El anticuerpo anti-D, rara vez muestra efecto de dosis, pero este se observa frecuentemente con los anticuerpos anti-E, anti- \bar{C} y con menor frecuencia anti-C.

(1,7,10)

SISTEMA MNSsU.- Descubierto en 1926 por Landsteiner y Levine al tratar de encontrar diferencias antigénicas fuera del sistema ABO encontrándose así los aglutinógenos M y N en suero de animales, producidos por inyección de sangre humana. Su herencia esta controlada por genes alélicos, no presentan gran inmunogenicidad y no provocan problemas transfusionales en la mayoría de los casos.

Sus anticuerpos son de aparición irregular natural formados por inmunoglobulinas generalmente IgM, que "in vitro" presentan las siguientes características serológicas: aglutinantes, fríos no hemolíticos, salinos a 22°C generalmente de producción natural, que sin embargo, ocasionalmente pueden ser IgG inmunes.

Los anticuerpos anti-M y anti-N exhiben efecto de dosis con bastante frecuencia. En algunos casos, la reactividad del anti-M puede aumentar acidificando el suero a un pH de 6.5 con HCl al 0.2%. Los antígenos M y N son destruidos por enzimas proteolíticas, por lo que los anticuerpos anti-M y anti-N no aglutinan las células así tratadas; este efecto facilita algunas veces la identificación de dichos anticuerpos. La destrucción eritrocitaria "in vivo" es extravascular.

Después se agregaron otros dos factores relacionados a M y N

que son S y s, siendo de origen inmune e irregulares con inmunoglobulinas del tipo IgG que presentan las siguientes características serológicas "in vitro" : sensibilizantes, activos a 37°C y su medio óptimo de acción es con antiglobulina humana al igual que las anteriores, se encuentra el anti-U, que junto con los demás han estado involucrados en reacciones transfusionales y EHRN [Enfermedad Hemolítica del Recien Nacido]. Algunas personas muy raras son SsU negativo; estos casos son muy raros pero estos individuos pueden producir anti-U, el cuál reaccionan con todas las células que poseen S y/ó s. Como la gran mayoría de las personas poseen estos antígenos, es difícil encontrar una sangre compatible para la transfusión. Este problema se ha solucionado en algunos países, haciendo un registro de las personas U negativo, quienes pueden servir como donantes. Su destrucción eritrocitaria "in vivo" es extravascular predominando en bazo. (1,2,4)

SISTEMA P.- Al igual que otros sistemas fué descubierto por Landsteiner y Levine en 1927, como consecuencia de sus experimentos de inunización en conejos, se hereda por un caracter mendeliano dominante, esta presente en el 80% de las personas de raza blanca y en el 94% de la raza negra.

Existen actualmente cuatro antígenos que conforman el sistema, ellos son: p_1 , P_2 , P^k y \bar{p} .

Los anteriores se combinan para formar cinco fenotipos que se muestran enseguida:

Antígenos	Fenotipos
P_1, P_2	P_1
P solo	P_2
P_1, P_2^k	P_1^k
P_2^k solo	P_2^k
\bar{P} solo	$(Tj^a \text{ negativo})$

Los fenotipos P_1 y P_2 son análogos al A_1 y A_2 en el sistema ABO. El fenotipo \bar{P}^a no contiene P_1 , \bar{P}_1^k ni P_2^k , y es también conocido como Tj^a negativo, después que fué encontrado el primer individuo con este raro tipo sanguíneo, el anticuerpo producido en estas personas se denominó anti- Tj^a ó anti- PP^k .

Los anticuerpos son de origen irregular, [considerese como anticuerpo irregular a todo aquél que no sea del sistema ABO] como anticuerpo frío es una IgM que puede fijar complemento. Puede reaccionar bien en albúmina y la reactividad a menudo se incrementa con células tratadas con enzimas.

Raros ejemplos de IgG anti-P se han descrito y también se han implicado en reacciones transfusionales y en enfermedad hemolítica.

Individuos de fenotipo P^k pueden producir un raro anticuerpo denominado anti-P, que se comporta como una potente hemolisina de la clase IgM, con un amplio rango térmico. Pero también puede presentarse como un anticuerpo IgG.

Otra variedad de anti-P es observada en pacientes con hemoglobinuria paroxística a frío. En estos casos, el anticuerpo se comporta como un hemolisina tipo IgG bifásica, es decir, que fija complemento a temperatura baja y hemoliza los glóbulos rojos a 37°C. La destrucción eritrocitaria "in vivo" es extravascular. (1,2)

SISTEMA Lutheran.- Descubierto en 1945 por Callender Race y Paykoc, al estudiar suero de un paciente con lupus eritematoso, sus principales antígenos son Lu^a y Lu^b.

A partir de entonces, cerca de 20 antígenos se han ido incorporando al sistema, la mayoría de las personas poseen antígeno Lutheran, con la excepción de un escaso grupo que son Lu (a-b-) y que son el resultado de dos mecanismos genéticos distintos.

En uno el fenotipo Lu es condicionado por la presencia de un gen amorfo Lu, de carácter recesivo, cuyos alelos están presentes en el locus Lu. El otro fenotipo Lu nulo es producido por un gen inhibido (InLu) de carácter dominante que se agrega independientemente y bloquea la expresión de los antígenos Lutheran.

Los antígenos Lutheran son probablemente glicoproteínas y están pobremente desarrollados en el nacimiento, pueden mostrar efecto de dosis pero no tan marcados como los antígenos MN; las enzimas generalmente no los alteran.

Los antígenos anti-Lu^a y anti-Lu^b son de escasa incidencia y pueden ser de producción natural. El anti-Lu^a es generalmente una aglutinina IgM de reacción en salina, pero ocasionalmente se presenta como IgG o IgA reaccionando en caliente y pudiendo fijar complemento. El anticuerpo anti-Lu^b puede ser de la clase IgG o IgA, y es demostrado por la prueba de antiglobulina, en conclusión este anticuerpo puede ser de importancia clínica.
(2,10)

La destrucción eritrocitaria "in vivo" es extravascular. (1)

SISTEMA Lewis.- Descrito por Mourat en 1946, para los estudios de genética representa una fuente importante de

información por las relaciones que tiene con el sistema ABO. Los antígenos Lewis no forman parte de la membrana de los glóbulos rojos, sino que pertenece a las secreciones y al plasma de donde son absorbidos por los eritrocitos, es decir que sus antígenos no son manufacturados por los glóbulos rojos, son sintetizados por células tisulares.

Son antígenos solubles cuya producción no sólo es dependiente de la herencia de los genes Lewis, sino también de la presencia de los genes secretores Se y de los genes ABH.

Los genes Lewis, al igual que los ABH no codifican directamente para la síntesis de los correspondientes antígenos, pero si inducen la producción de una transferasa específica, la L-fucosiltransferasa, que es capaz de raccionar solamente con las cadenas tipo I de la sustancia precursora. Sus antígenos son glucosfingolípidos y son Le^a y Le^b , los fenotipos conocidos son: $Le(a+b-)$, $Le(a-b-)$ y $Le(a-b+)$.

La fucosiltransferasa específica se encarga de fijar una molécula de fucosa a la molécula de N-acetilglucosamina, resultando un nuevo producto con actividad antigénica, denominado Lewis a (Le^a). Este material está presente en la saliva de cualquier persona que contenga el gen Le^a , independiente de que sea secretora o no secretora. La producción de Le^a no requiere la

presencia del gen H ni de su producto.

Cuando los genes H, Se, y Le están presentes simultáneamente, se presenta una interesante interacción: dos moléculas de fusosa son unidas a la sustancia precursora, una de ellas se une a la galactosa y la otra a la N-acetilglucosamina. El producto así formado también posee actividad antigénica, y es denominado Lewis ^b (Le ^b). Aunque la enzima fucosiltransferasa es dependiente solo de los genes H y Le. La sustancia Le ^b no desarrolla si no esta presente el gen Se.

Los genes Le, Se y se son heredados independientemente de los alelos ABO y Hr.

Sus anticuerpos (Le ^a Le ^b) son de origen natural irregular formado por inmunoglobulinas del tipo IgM, que presentan los siguientes características serológicas "in vitro": aglutinantes fijadoras de complemento (son capaces de producir hemólisis), activas a temperatura de 4°C a 37°C y su actividad se incrementa con glóbulos rojos tratados con enzimas, en donde la hemólisis se puede apreciar mejor.

La destrucción eritrocitaria "in vivo" puede ser intravascular o extravascular.

(1,7,10)

SISTEMA Kell.- Fue descubierto por Coombs, Mourat y Race en 1946, el antígeno correspondiente fue designado Kell(k).

El antígeno Kell justifica consideración especial dentro del sistema porque el antígeno anti-Kell es uno de los más frecuentes en la rutina del banco de sangre. Ello se debe a su inmunogenicidad, por lo que es considerado como el segundo en potencia después del antígeno D. En otras palabras, cuando individuos Kell son expuestos al antígeno sea por transfusiones y/o embarazos tienen grandes posibilidades de ser inmunizados, afortunadamente, la frecuencia de los antígenos Kell es baja (9% en blancos) por lo que las donaciones de sangre rara vez tienen el antígeno positivo y el receptor Kell negativo tiene pocas posibilidades de ser transfundido con una sangre Kell positivo, esta misma explicación es válida para la inmunización trasplacentaria.

Los antígenos Kell son producidos a partir de una sustancia precursora Kx que es codificada por el cromosoma X¹⁹. Esta sustancia es convertida quizá por efecto enzimático (transferasas), en los diferentes antígenos del sistema. El cromosoma en el cual se ubican los genes no se conoce pero se supone que sea una autosoma.

Los anticuerpos anti-Kell son secundarios a la estimulación antigénica producida por la transfusión ó embarazos, pero también se ha señalado la existencia de formas naturales.

En su mayoría son IgG causantes de reacciones en transfusión sanguínea ó enfermedad hemolítica del recién nacido, por otro lado presentan las siguientes características serológicas "in vitro": sensibilizantes, activos a 37°C, casi no fijan complemento por lo tanto no producen hemólisis, su medio óptimo es con antiglobulina humana, aunque algunas veces se puede detectar con albúmina polimerizada.

El anti-Kell es el de mayor incidencia dentro de este sistema, y es debido a que el antígeno Kell es entre todos el de mayor potencia. Otros anticuerpos como el anti-Kp^a, anti-Kp^b y anti-Js^a son de importancia clínica pero afortunadamente son muy raros.

(2,3,10)

SISTEMA Duffy.- El primer anticuerpo de este sistema fué descubierto por Cutbush, Mollison y Parker, quienes lo encontraron en el suero de un paciente hemofílico politrasfundido (el Sr. Duffy), el antígeno identificado fué denominado Duffy^a (Fy^a) y el anticuerpo anti-Fy^a. En 1951, fué descubierto el anticuerpo que identificaba un alelo^b

hipotético el Fy . Desde 1970, se han descrito tres nuevos anticuerpos que han identificado otros tantos antígenos; ellos son:

Anticuerpos	Antígenos
anti-Fy ³	Fy ³
anti-Fy ⁴	Fy ⁴
anti-Fy ⁵	Fy ⁵

La determinación de los antígenos Duffy en gran escala han mostrado una distribución irregular entre poblaciones blancas y negras, ha llamado la atención de la incidencia del fenotipo Fy(a-b-), en blancos es muy baja y los raros individuos que lo poseen que han sido transfundidos con sangre que contienen los otros antígenos, han desarrollado anticuerpo. Sin embargo, en individuos de raza negra cuya incidencia de Fy(a-b-) es elevada rara vez se inmunizan. Ello ha conducido a la hipótesis aunque el fenotipo Fy(a-b-) se produciría por un mecanismo genético diferente en ambos grupos étnicos.

Los anticuerpos para estos antígenos, usualmente son aglutininas inmunes IgG, que presentan las siguientes características serológicas "in vitro": sensibilizantes, activos

a 37°C, fijan complemento (hemolizantes) y su medio óptimo de acción es con antiglobulina humana. Ambos anticuerpos han sido implicados en reacciones hemolíticas transfusionales y en la enfermedad hemolítica del recién nacido. El anti-Fy^a se detecta con mayor frecuencia que el anti-Fy^b y este último se asocia generalmente con anticuerpos de otras especificidades. Los dos anteriores se detectan con mayor frecuencia en individuos de raza blanca.

SISTEMA Kidd.- Este sistema fué descubierto en 1951 en un niño que presentó enfermedad hemolítica, causada por un anticuerpo materno, el cuál fué denominado anti-Jk^a posteriormente se descubrió el anti-Jk^b en una reacción hemolítica transfusional. Un tercer antígeno fué incluido en 1959, el cual fué denominado JK³, son heredados por medio de un gen que se expresa por sí mismo en dosis única o doble dando lugar a los antígenos.

(2,4,7)

En muy escasas personas se han demostrado que no contienen antígenos Kidd, fenotipo que se ha denominado nulo o JK(a-b-).

Sus anticuerpos son del tipo inmune irregular del tipo IgG que presentan las siguientes características serológicas "in vitro": sensibilizantes, activos a 37°C, su medio óptimo de acción es con antiglobulina humana, la actividad del anticuerpo

se incrementa cuando los eritrocitos son tratados con enzimas, fijan bien el complemento y pueden en efecto dificultar su identificación si no se usa suero muy fresco. Su destrucción eritrocitaria "in vivo" es extravascular predominando en hígado en caso de anti-JK^a y en bazo con anti-JK^b y anti-JK^{ab}.
(2,4,10)

SISTEMA Diego.- Es mencionado en sus inicios como entre los grupos sanguíneos privados o familiares, fué hasta 1955 que se estableció que su herencia se producía en forma heterocigota y no ligada al sexo, de tal manera, se denominó al antígeno encontrado Di^a. El alelo hipotético Di^b fué encontrado por Thomson, quien descubrió los dos primeros ejemplos del anticuerpo Di^b en dos indígenas mexicanos. Los antígenos Diego integran un sistema que ha demostrado su completa independencia de todos los otros sistemas sanguíneos.

Sus anticuerpos anti-Di^a y anti-Di^b, son de origen inmune irregular formados por inmunoglobulinas IgG que presentan las siguientes características serológicas "in vitro": sensibilizantes, activos a 37°C y su medio óptimo de acción es con antiglobulina humana. Su destrucción eritrocitaria "in vivo" es extravascular, predominando en bazo.

SISTEMA I.- Fué descubierto en 1956 por Wiener, Unger, Cohen y Feldman, al estudio de este sistema se inició con suero

de pacientes con anemia hemolítica adquirida del tipo de anticuerpos fríos, está formado por dos antígenos principales: I e i, dichos antígenos están presentes en el 100% de todas las personas.

Sus anticuerpos anti-I y anti-i, son de origen natural irregular formados por inmunoglobulinas IgM e IgG que presentan las siguientes características serológicas "in vitro": aglutinantes y fijadoras de complemento. La destrucción eritrocitaria "in vivo" es extravascular.

(1,2,3)

SISTEMA Xg.- Fue descubierto en 1962 por Mann, Kahan, Gelb, Fisher, Tippet, Sanger y Race, es el único sistema sanguíneo que se conoce, está controlado por genes del cromosoma X, siendo esta su importancia por la información que proporciona a la genética de los grupos sanguíneos, su antigenicidad es mínima y clínicamente no ocasiona problemas de incompatibilidad.

Aparte de los sistemas antes mencionados, existen otros antígenos llamados públicos, que son de alta frecuencia pero poco inmunogénicos; entre los más conocidos se encuentran: Vel[Ve]^a, Gerbich[Ge]^a, Sif[Sd]^a, York[YK]^a, Cartwright[Yt]^a, Colton[Co]^a, Chido[Ch]^a, Rodgers[Rg]^a, Dombrock[Do]^a, Lan, Gregory[Cy]^a y August[At]^a.

(1)

Además, existen los antígenos de poca frecuencia llamados "privados", de los cuales se han encontrados varios, dándoles el nombre de quien los encuentra, por ejemplo Levay, Graydon, Jobbis, Miltenberg, Becker, Ven Ka, Berrens, Writh, Romude, etc.

Como ya se mencionó, los antígenos con poder inmunogénico más alto, son los del sistema ABO, seguido por los del sistema Rh-Hr, del que el antígeno D es el más importante, seguido del \bar{c} y E. Esto es cierto para la mayoría de las diferentes poblaciones, pero con respecto a los otros grupos sanguíneos, hay ligeras variaciones entre las poblaciones caucásica, francesa, americana, mexicana, etc.

Presentando cada anticuerpo características serológicas específicas. [esquema 1].

Lo anterior unido a la prevalencia, clase y actividad del anticuerpo "in vivo" contra estos sistemas de grupos sanguíneos, nos pone en guardia de los que podemos esperar como respuesta inmune y posibles reacciones postransfusionales, para poder evitar daños aumentando la morbilidad o la mortalidad de los pacientes.

(1,3,10)

Generalmente los anticuerpos presentan las siguientes características

Especificidad del anticuerpo	Características serológicas "in vitro"	Clasificación	Clase de Inmunoglobulina	Dstrucción
Anti A, B	Aglutinantes hemofílicos Fijadores de complemento	Regular Natural	IgG, IgM	Intravascular
Anti A H P I 1	Aglutinantes	Irregular Natural	IgM	Extravascular
Anti Le ^a Le ^b	Aglutinantes Hemofílicos Fijadores de complemento	Irregular Natural	IgM IgG	Algunos intravascular
Anti M N	Aglutinantes	Irregular Natural	IgM	Extravascular
Anti Fy ^a Jk ^a K	Sensibilizantes Activos 37°C Fijadores de complemento Medio óptimo de acción antiglobulina humana	Irregular inmaune	IgG	Extravascular predominante en hígado
Anti Fy ^a Fy ^b Jk ^{ab} K D c E Di S s k	Sensibilizantes Activos 37°C Fijadores de complemento Medio óptimo de acción antiglobulina humana	Inmaune irregular	IgG	Extravascular predominante en bazo

Características serológicas relación con el patrón de destrucción celular

REFERENCIA DE LOS GRUPOS SANGUÍNEOS

Los grupos sanguíneos son caracteres hereditarios y al igual que otras características del género humano están determinados por genes heredados de los progenitores.

Los estudios sobre genética llevan un gran adelanto, sin embargo, en cuanto a grupos sanguíneos se refiere no se ha podido determinar con exactitud en que cromosoma se encuentra sus loci, con excepción del sistema Xg ligado al sexo y que se sabe con certeza desde 1962 se encuentra en el cromosoma X.

El primer locus autosómico asignado a un grupo fue el Duffy en 1968, posteriormente el del Rh.

Rh y Fy en el cromosoma 1
M, N, y S en el cromosoma 4
Ch y Rg en el cromosoma 6
ABO en el cromosoma 9

y tentativamente los grupos sanguíneos:

P, P en el cromosoma 6
1

Jk y Co en el cromosoma 7

PANEL

En 1962 en el Banco Central de Sangre del Centro Médico Nacional del Instituto del Seguro Social, se inició la integración de la metodología para el estudio de la sangre de los donadores y la selección de un grupo de sangres de estructura fenotípica eritrocitaria conocida como "Panel", para fines de identificación de los anticuerpos contra eritrocitos de los sueros de pacientes politransfundidos con antecedentes de reacciones postransfusionales o en estudio de inmunización materno-fetal (IMF), con técnicas en medio salino, protéico, con enzimas y con la técnica de antiglobulina humana (AGH) o suero de Coombs.

La investigación de anticuerpos se efectúa con un patrón de células conocidas, llamado también "Panel", que se puede adquirir comercialmente o prepararse en el laboratorio.

Este "Panel" contiene un número de células usualmente de 10 donadores de grupo sanguíneo "O", los cuales han sido cuidadosamente seleccionados y tipificados para los siguientes sistemas de grupos sanguíneos: Rh-Hr, MN, Ss, P, Duffy, Kell, Diego, Lewis, Kidd y Lutheran.

Este "Panel" puede ser congelado con glicerina o nitrógeno líquido, en el Banco Central de Sangre se utilizan células preservadas entre 4°C y 6°C con algunos metabolitos, lo que le da una vigencia de 15 días.

Los resultados son registrados y se tendrán en una carta para cada grupo (Panel) que se este usando con el lote y fecha de caducidad, la cual deberá ser reportada, ya que la reactividad de algunos antígenos puede disminuir después de esa fecha.

(11)

Estos eritrocitos conocidos son útiles para contestar las siguientes preguntas:

- 1.- ¿Hay anticuerpos en suero del paciente o donador?
(prueba pantalla).
- 2.- ¿Cuál es su especificidad?
(contra qué antígeno va dirigido).
- 3.- ¿A qué título se encuentra el antígeno?

LISS

(Solución de baja fuerza iónica)

Este medio de reacción al igual que otros disminuye el potencial Z de los eritrocitos, el origen de esta solución fué cuando Allen y Fudenberg, observaron que aproximadamente la mitad de las reacciones hemolíticas eran debidas a transfusiones de sangre por errores cometidos en las pruebas pretransfusionales para una compatibilidad sanguínea, para lo cual, pensaron que era necesario métodos más sensibles para evitarlo. En 1964 Hughes-Jones y colaboradores, señalaron que la disminución del medio iónico aumentaba la constante de asociación antígeno-anticuerpo; al querer utilizar este tipo de medio no tuvieron éxito, debido a que encontraron falsos positivos. Fué hasta 1974 cuando Lowy y Messeter estudian nuevamente este método, el cual al obtener magníficos resultados lo introducen como un proceso de rutina en la fase de incubación de la prueba de Coombs indirecta.

Dichos estudios fueron confirmados en 1976 por Mora y Mollison.

En la actualidad hay infinidad de trabajos que son publicados acerca de este medio de reacción para las pruebas de compatibilidad sanguínea.

En sí, la solución salina de baja fuerza iónica (LISS) según More y Mollison está constituida de la siguiente forma:

Glicerina	90.000 gr
Ortofosfato dihidrógeno de sodio	1.170 gr
Ortofosfato higrógeno de sodio	1.065 gr
Cloruro de sodio	8.950 gr
Acida de sodio	1.000 gr
Agua destilada	5.000 lt

Para obtener máximos resultados en la utilización de LISS hay que considerar tres factores de suma importancia:

- a) Concentración
- b) Tiempo de incubación
- c) pH

LISS, como observamos se puede preparar en el laboratorio sin ningún problema, incluso su preparación no es costosa.

En 1980 J. Jorgensen realizó un estudio comparativo para ver la sensibilidad de tres diferentes medios de reacción: solución salina fisiológica, albúmina y LISS. Considerando como variable el tiempo de incubación 37°C, finalmente se concluyó que el medio de reacción LISS es más sensible a una concentración de 0.09 Molar con un tiempo de incubación óptimo para detectar mayor número de anticuerpos IgG de 20 a 40 minutos.

(13)

FUNDAMENTACION DE LA ELECCION DEL

TEMA

Este proyecto será realizado debido a que es necesario que en todo banco de sangre, así como a nivel institucional y del país, se deba detectar la presencia de anticuerpos irregulares antiertrocitos, así como su frecuencia y especificidad entre su población de donadores para dar mayor seguridad en su terapia transfusional.

Dado que las normas de bancos de sangre establecen que se debe practicar la investigación de anticuerpos irregulares en el suero de:

Donantes de sangre

Candidatos a recibir transfusiones

En los donantes, la investigación tiene por finalidad detectar anticuerpos irregulares para prevenir su transferencia al receptor. Las Normas de la Asociación de Bancos de Sangre, recomienda especialmente que esta prueba debe realizarse en aquellos donantes con historia de transfusiones anteriores ó embarazos.

(3, 14)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Serán comparativos los resultados del rastreo de anticuerpos irregulares entre donadores que tienen antecedentes transfusionales y/o embarazos, y los que no los tienen. Para decidir si es necesario practicar dicha investigación en todos los donadores o sólo en el grupo en donde los resultados fueron significativos.

OBJETIVO

Determinar por medio de un rastreo de anticuerpos irregulares en un panel, si en los donadores del Hospital Regional 20 de Noviembre, con y sin antecedentes transfusionales y/ó embarazos, existe una diferencia significativa en cuanto a la presencia de anticuerpos irregulares antieritrocitos.

HIPOTESIS

Si al realizar el rastreo de anticuerpos irregulares antieritrocitos en los donadores del Hospital Regional 20 de Noviembre, existe diferencia entre los resultados de los donadores con antecedentes transfusionales y/o embarazos y los donadores que no presentan dichos antecedentes; entonces la investigación del rastreo de anticuerpos irregulares antieritrocitos será practicado sólo rutinariamente en el grupo donde la detección de anticuerpos fue significativa.

MATERIAL

INSTRUMENTOS

- Centrifuga serológica (Clay Adams)
- Gradilla de acero inoxidable
- Tubos de ensaye 13X75 mm (Pyrex)
- Baño de agua (Queb Lab)
- Pipetas Pasteur (Lee Queb)

REACTIVOS

- Sueros Reactivos (anti-A, anti-B, anti-AB, anti-D) (Inmutec)
- Células A, B, O [Banco Sangre H. 20 Nov]
- Solución LISS (solución de baja fuerza iónica) (CMN)
- SSF (solución salina fisiológica) (CMN)
- Panel de células (CMN)

MATERIAL BIOLÓGICO

- 300 donadores del banco de Sangre del H, Regional 20 de Noviembre.

METODO

Separación de la muestra en dos grupos:

Para separar las muestras en los dos grupos que fueron estudiados, se pidió al médico que realice el examen clínico, haciendo énfasis en preguntas como:

- Si existieron transfusiones anteriormente, de ser positiva la respuesta ¿Cuántas? ¿Hace cuánto tiempo?

- En el caso de mujeres, si hubo embarazos y abortos, de ser positiva la respuesta ¿Cuántos? y el más cercano ¿Hace cuánto tiempo fué? ¿Si alguno de los productos presentó enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN)?.

Las muestras fueron tomadas por el personal de sangrado del Banco de Sangre del Hospital.

Fueron realizados los estudios respectivos para la detección de VIH, Hepatitis y VDRL.

De ser negativos los resultados de las pruebas de las muestras, fueron separadas en dos grupos para la investigación de anticuerpos irregulares, según los resultados del cuestionario ya mencionado anteriormente en donadores con antecedentes transfusionales y/o embarazos y donadores sin antecedentes transfusionales.

(1,2,10)

PROCESO DE LA MUESTRA

- Se separó de la muestra en estudio, el suero de los eritrocitos, centrifugando la muestra completa a 3400 rpm durante 10 min. El suero se colocó en otro tubo debidamente identificado.

- Se colocó en un tubo de ensaye 13X75 una alícuota de los glóbulos rojos en estudio y se lavaron una vez con SSF (solución salina fisiológica), centrifugando a 3400 rpm durante 3 min.

- Se eliminó el sobrenadante y se preparó una suspensión celular al 5% en SSF.

- De la misma manera se lavó otra alícuota de GR (glóbulos rojos) con SSF en tubo diferente.

- Se eliminó el sobrenadante, se secó totalmente y se preparó una suspensión al 5% en LISS.(9)

PROCESO DE LAS CELULAS DEL PANEL

- Las células del semipanel a utilizar se lavaron tres veces respectivamente con SSF y se secaron totalmente, volteando el tubo con el botón de células compactas en el fondo hasta que ya no goteó más SSF.

- Las células lavadas del semipanel perfectamente secas, se suspendieron en LISS hasta lograr una suspensión al 5%.
(1)

DETERMINACION DEL SISTEMA ABO

Comprendió de dos partes:

- a) Desarrollo de la prueba celular (prueba directa)
- b) Desarrollo de la prueba sérica (prueba inversa)

DESARROLLO DE LA PRUEBA CELULAR

- Se seleccionaron tres tubos de 13X75 y se identificaron con un marcador como A, B, AB respectivamente.

 - Se colocaron en el tubo marcado como A, una gota de suero anti-A; en el tubo B, se colocó una gota de suero anti-B y en el tubo marcado AB, una gota de suero anti-AB.

 - Se agregó a cada tubo una gota de la suspensión de hematíes y mezcló.

 - Se centrifugó a 3400 rpm por 15 segundos o a 1000 rpm por 1 minuto.

 - Se desprendió el botón de células del fondo del tubo agitándolo suavemente, se inclinó hasta la posición horizontal para apreciar completamente la aglutinación y cuantificarla en cruces.

 - Se anotó los resultados inmediatamente teniendo el tubo en la mano para posible verificación en caso de duda.
- (1,9)

DESARROLLO DE LA PRUEBA SERICA

- Se identificaron tubos de 13x75 por ejemplo: A, B, AB, O.

- Se colocaron dos gotas del suero en estudio en cada tubo.

- Se agregaron una gota de hematias A al 5t en SSF al tubo marcado como A y así respectivamente para el tubo marcado B, AB, O.

- Se mezcló agitando el tubo.

- Se centrifugó a 3400 rpm por 15 seg o a 1000 rpm por 1 min.

- Se observó el sobrenadante contra un fondo blanco bien iluminado para detectar hemólisis.

- Se desprendió el botón de células del fondo del tubo agitándolo suavemente, inclinándolo hasta la posición horizontal y leyendolo contra un fondo bien iluminado para apreciar completamente los aglutinados dispersos.

- Se anotaron inmediatamente los resultados de la agitación.
(1,9)

DETERMINACION DEL SISTEMA Rh (ANTIGENO D)

- Se identificó apropiadamente un tubo de vidrio de 13X75 mm, para la prueba.

- En el tubo identificado, se colocó una gota de reactivo Rh.

- Se agregó a cada tubo una gota de la suspensión de células rojas al 5%.

- Se mezcló y se centrifugó según las normas establecidas.

- Se resuspendió suavemente el botón de células del fondo del tubo y se leyó en cruces la aglutinación.

(1,2)

RASTREO DE ANTICUERPOS IRREGULARES CON SEMIPANEL

- Las células del semipanel previamente tratadas fueron colocadas una gota en cada tubo numerándolos previamente del 1 al 5 como sigue: en el tubo 1 agregar una gota de células identificadas en el Panel como No. 1 y así sucesivamente hasta el

final se agregó un tubo destinado para el autotestigo en el cual se colocó una gota de células del donador (suspendidas en LISS, previamente preparadas).

- Se colocó en cada tubo incluyendo el autotestigo dos gotas del suero problema usando pipetas Pasteur.

- Se mezcló cada tubo y centrifugó (LISS rápida).

- Se observó cada tubo detenidamente para detectar la presencia de aglutinación ó hemólisis y se anotaron los resultados tubo en mano.

- Se incubaron los tubos a 37°C durante 10 min (LISS a 37°C).

-Se homogenizaron y centrifugaron.

- Se observó cada tubo detenidamente para detectar una posible aglutinación ó hemólisis y se anotaron los resultados tubo en mano.

- Se lavó el contenido de los tubos con SSP 4 veces.

- Se secó perfectamente.

- Se adicionaron dos gotas de suero de Coombs (LISS Coombs).
- Se centrifugaron y se observó la aglutinación o hemólisis y se anotó tubo en mano.
(1,2,10)

RASTREO DE ANTICUERPOS IRREGULARES CON EL PANEL COMPLETO

- Las células del panel restantes (6-10) fueron tratadas de igual manera que las células del semipanel.
- Se numeraron los tubos de 13X75 del 1-10 y uno como AT para el autotestigo.
- Se procedió a colocar las células del panel como sigue: en el tubo No.1 se agregó una gota de células identificadas en el panel como No.1 y así sucesivamente, en el tubo para el autotestigo una gota de glóbulos rojos del donador en turno previamente tratados con LISS. (lo anterior se realizó con una gota de pipetas Pasteur)
- De igual manera que en el rastreo con el semipanel se agregó a cada tubo dos gotas de suero problema.

- Se procedió a realizar todas las pruebas que se hicieron con el semipanel (LISS rápida, LISS a 37°C y LISS coombs).

- Cuando fué negativo el resultado se hizo prueba de control Coombs.

(1,2,10)

PRUEBA CONTROL COOMBS

- Se adicionó una gota de glóbulos rojos previamente sensibilizados (Control Coombs) a la muestra ya trabajada pero previamente hecha con cuatro lavados con SSF y perfectamente seca.

- Se centrifugó y observó posible aglutinación.

- La lectura debió ser positiva si se trabajó correctamente, de no ser así se repitió el rastreo con mayor precaución.

(2,10)

RESULTADOS

Número total de la muestra 300 donadores con las siguientes características:

Donadores	Número	Resultados Positivos
Con antecedentes transfusionales	2	2
Con embarazos	69	2
Sin antecedentes transfusionales	298	0
Sin embarazos	34	0
Con antecedentes transfusionales y embarazos	1	1
T O T A L -----		5
P O R C E N T A J E -----		1.66

A continuación se muestran las imágenes obtenidas para cada uno de los donadores que presentaron un rastreo de anticuerpos irregulares positivos, así como su probable especificidad.

Maldonado de la Luz Mendoza Silvia

43 años Sexo femenino

Antecedentes Transfusionales hace 8 años

Grupo sanguíneo: A Rh positivo

anti	A	AB	B	D	Alb	A1	A2	B	O
	3+	3+	-	3+	-	-	-	3+	-

Fenotipo	C	\bar{c}	E	\bar{e}	D C \bar{a} / D C \bar{e}	
	2+	-	-	3+	Probable	
					R	R
					1	1

IMAGEN I

Semipanel (células 1-5) Centro Médico Nacional

Celulas No.	LISS/RAP	LISS/37°C	LISS/Coombs
1	-	-	-
2	2+	2+	3+
3	2+	3+	3+
4	1+	2+	3+
5	2+	3+	3+
Autotestigo	-	-	-

IMAGEN II

Panel completo (células 1-10) Cento Médico Nacional

Células No.	LISS/RAP	LISS/37°C	LISS/Coombs	Salina/RAP
1	-	-	-	-
2	2+	3+	3+	-
3	2+	2+	3+	-
4	1+	2+	3+	-
5	2+	2+	3+	-
6	2+	3+	2+	-
7	g	2+	3+	-
8	g	2+	2+	-
9	-	-	-	-
10	-	2+	2+	-
Autotestigo	-	-	-	-

Anticuerpo Inmune Irregular (amplio rango térmico)

Probable anti \bar{c}

Lince Bustamante Celia Aidé

31 años Sexo Femenino

Sin antecedentes Transfusionales y con tres embarazos

Grupo sanguíneo: O Rh positivo

anti	A	AB	B	D	Alb	A1	A2	B	O
	-	-	-	3+	-	3+	2+	3+	-

IMAGEN III

Semipanel (células 1-5) Centro Médico Nacional

Células No.	LISS/RAP
1	-
2	1+
3	1+
4	-
5	1+
Autotestigo	-

IMAGEN IV

Panel Completo (células 1-10) Centro Médico Nacional

Células No.	Alb/RAP	Alb/37°C	Alb/Coombs	Salina/RAP
1	-	-	-	-
2	1+	-	-	g
3	1+	-	-	g
4	-	-	-	-
5	1+	-	-	g
6	1+	-	-	g
7	-	-	-	-
8	g	-	-	g
9	g	-	-	g
10	-	-	-	-
Autotestigo	-	-	-	-

Se observa efecto de dosis en carta del panel.

IMAGEN V

Células No.	Salina/RAP	Salina/4°C	Alb/RAP
1	g	1+	1+
2	1+	2+	2+
3	1+	2+	2+
4	g	1+	2+
5	1+	2+	2+
6	1+	2+	2+
7	g	1+	2+
8	1+	2+	2+
9	1+	2+	2+
10	g	1+	2+
Autotestigo	-	-	-

Probable anticuerpo Natural irregular (anticuerpo frio albúmina dependiente)

Probable anti-M

Castillo Jorge Valerio

21 años Sexo Masculino

Antecedentes Transfusionales solo un paquete globular

Grupo sanguíneo: O Rh positivo

anti	A	AB	B	D	Alb	A1	A2	B	O
	-	-	-	3+	-	3+	3+	3+	-

IMAGEN VI

Semipanel (células 1-5) Centro Médico Nacional

Células No.	LISS/RAP
1	g
2	-
3	1+
4	-
5	1+
Autotestigo	-

IMAGEN VII

Panel Completo (células 1-10) Centro Médico Nacional

	Celulas No Salina/RAP	Salina/RAP	Alb/RAP	Alb/37°C	Alb/Coombs
1	g	1+	1+	-	-
2	-	-	-	-	-
3	1+	2+	2+	-	-
4	-	-	-	-	-
5	g	2+	2+	-	-
6	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-
8	2+	2+	-	-	-
9	g	1+	g	-	-
10	-	-	-	-	-
Autotestigo	-	-	-	-	-

IMAGEN VIII

Panel Completo (celulas 1-10) Comercial AMTEC

Células	No Salina/RAP	Salina/37°C	Alb/RAP	Alb/37°C	Alb/Coombs
1	-	-	-	-	-
2	2+	3+	3+	-	-
3	2+	2+	3+	-	-
4	1+	1+	2+	-	-
5	-	1+	2+	-	-
6	2+	3+	3+	-	-
7	-	-	-	-	-
8	g	2+	2+	-	-
9	1+	3+	3+	-	-
10	-	-	g	-	-
Autotestigo	-	-	-	-	-

Anticuerpo frío irregular

Probable anti-P

Mario González González

37 años Sexo Masculino

Con antecedentes Transfusionales hace 1 año

Grupo O Rh positivo

anti	A	AB	B	D	Alb	A1	A2	B	O
	-	-	-	3+	-	3+	3+	3+	-

IMAGEN IX

Semipanel (células 1-5) Centro Médico Nacional

Células No.	LISS/RAP
1	g
2	g
3	g
4	1+
5	1+
Autotestigo	-

IMAGEN X

Semipanel (células 1-10) Centro Médico Nacional

Células	No Sal/RAP	Sal/4°C	Sal/22°C	Alb/RAP	Alb/37°C	Alb/Coombs
1	g	1+	1+	1+	-	-
2	g	2+	2+	2+	-	-
3	1+	2+	2+	2+	-	-
4	g	1+	2+	2+	-	-
5	1+	2+	2+	2+	-	-
6	1+	2+	2+	2+	-	-
7	g	1+	2+	2+	-	-
8	1+	2+	2+	3+	-	-
9	1+	2+	2+	3+	-	-
10	g	2+	2+	2+	-	-
Autotestigo	-	-	-	-	-	-

Anticuerpo frío irregular

Probable anti M

Reyes Cruz Tomasa

44 años Sexo femenino

Con embarazos y antecedentes transfusionales

Grupo sanguíneo A Rh positivo

anti	A	AB	B	D	Alb	A1	A2	B	O
	4+	4+	-	3+	-	-	-	3+	-
		a		b					
Fenotipo	Le		Le						
	-		+						

IMAGEN XI

Semipanel (células 1-5) Centro Médico Nacional

Células No.	LISS/RAP	LISS/Salina	LISS/Coombs
1	-	-	-
2	-	-	-
3	-	-	-
4	3+	-	-
5	-	-	-
Autotestigo	-	-	-

IMAGEN XII

Panel (células 8-10) Centro Médico Nacional

Células No.	LISS/RAP
8	-
9	-
10	3+
Autotestigo	-

Al observar que con las células del semipanel, unicamente aglutinaban la Célula No. 4 en LISS rápida se procedió a fenotipar los eritrocitos y al obtener resultado positivo (Le^b) se probaron las células No. 8, 9 y 10 para comprobar con la carta del panel.

Anticuerpo frío irregular natural

^b
Probable anti-Le

**INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS CON RESPECTO A
LA LECTURA DE LA CARTA DEL PANEL**

Una forma rápida y sencilla para la interpretación del panel, es el método de exclusión o descarte de posibles anticuerpos basado en la no reactividad del anticuerpo con aquellas células del panel que no poseen determinados antígenos. Es decir, si el suero no reacciona con una determinada célula del panel en todas las fases de la prueba, significa que el o los anticuerpos presentes en el suero, no están dirigidos contra los antígenos presentes en esa determinada célula. En cambio, el anticuerpo tendrá especificidad contra el o los antígenos que estén presentes en las células que resultan aglutinadas. El primer paso para la interpretación del panel es observar el autocontrol, que son las células del paciente suspendidas en su propio suero y tratadas en la misma forma que el resto de las células del panel. Si el autocontrol es negativo, sirve de comparación para otras células del panel que no reaccionaron o que lo hicieron en forma muy débil. Si es positivo, permite igualmente compararlo en las diferentes fases con las células que fueron aglutinadas y detectar alguna posible enfermedad autoinmune.

(1)

(A continuación se presentan dos cartas de panel, una de panel Mex y otra de panel comercial, ya que son 2 de las cartas que se usaron para la identificación de los Acps.)

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
 DELEGACION No. 3 SUROESTE DISTRITO FEDERAL
 BANCO CENTRAL DE SANGRE DEL CENTRO MEDICO NACIONAL

	C	D	E	c	e	H	N	S	s	P	F ₁ ^a	F ₂ ^b	K	k	JK ^a	JK ^b	Lc ^a	Lc ^b	Di ^a	Di ^b
1.-	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+		
2.-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+		
3.-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+		
4.-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-		+
5.-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+		
6.-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	+		
7.-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+		
8.-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-		
9.-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-		
10.-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+		+

CARTA DEL PANEL No. 11 DE 1990.

Rho (D) Negativo= 3, 7
 Semipanel= 1, 2, 3, 4 y 5
 R₁r=4, Ousese para la evaluación

del anti Rho (D)

VALIDO HASTA EL 5 DE ABRIL DE 1990.

RESULTADOS ESTADISTICOS

CUADRO NO. 1

Anticuerpos irregulares	Embarazos Si	o No	Antec.Trans. No	Total
Si	5		0	5
No	67		228	295
	72		228	300

HIPOTESIS:

Ho. La premisa de la presencia de anticuerpos irregulares es independiente de los antecedentes transfusionales o embarazos.

Ha. La premisa de la presencia de anticuerpos irregulares es dependiente de los antecedentes transfusionales o embarazos.

ESTADIGRAFO DE CONFIANZA:

$$X^2 = \frac{n \{ [ad-bc] - 0.5n \}^2}{(a+c)(b+d)(a+d)(c+d)}$$

$$= \frac{300 \{ [(15)(28) - (0)(67)] - 0.5(300) \}^2}{(5+67)(0+228)(570)(67+228)}$$

$$= 12.1431$$

x^2 teórica=9.12

n=300

a=5

b=0

c=67

d=228

X^2 calculada > X^2 teórica por lo tanto Ho. se rechaza

CONCLUSION:

Ha es aceptada y por tanto se concluye que la presencia de anticuerpos irregulares depende de si el individuo ha tenido transfusiones o embarazos con anterioridad.

CUADRO NO. 2

Anticuerpos irregulares	Embarazos y Transfusiones		Total
	Si	No	
Si	1	4	5
No	0	395	300
			300

HIPOTESIS:

Ho. La premisa de la presencia de anticuerpos irregulares es independiente de los antecedentes transfusionales y embarazos.

Ha. La premisa de la presencia de anticuerpos irregulares es dependiente de los antecedentes y embarazos.

ESTADIGRAFO DE CONFIANZA:

χ^2
x teórica=9.12

n=300

$$\chi^2 = \frac{300 \{ [(1)(395) - (4)(0)] - 0.5(300) \}^2}{(1+0)(4+395)(1+4)(0+395)}$$

a=1

= 22.85

b=4

c=0

χ^2 calculada > χ^2 teórica por tanto Ho se rechaza

d=395

CONCLUSION:

Ha es aceptada y por lo tanto se concluye que la presencia de anticuerpos irregulares depende de si el individuo ha tenido transfusiones y embarazos con anterioridad.

CUADRO NO. 3

Anticuerpos irregulares	Antecedentes Transfusionales		Total
	Si	No	
Si	3	2	5
No	0	295	295
	3	297	300

HIPOTESIS:

Ho. La premisa de la presencia de anticuerpos irregulares es independiente de los antecedentes transfusionales.

Ha. La premisa de la presencia de anticuerpos irregulares es dependiente de los antecedentes transfusionales.

$$\chi^2 \text{ teórica} = 9.12 \quad n=300$$

ESTADIGRAFO DE CONFIANZA:

$$\chi^2 = \frac{300 \{ [(3)(295) - (2)(0)] - 0.5(300) \}^2}{(3)(297)(5)(295)}$$

a=3
b=2
c=0
d=295

$$= 122.647$$

χ^2 calculada > χ^2 teórica por lo tanto Ho se rechaza

CONCLUSION:

Ha es aceptada y por lo tanto se concluye que la presencia de anticuerpos irregulares depende de si el individuo ha tenido transfusiones con anterioridad.

CUADRO NO. 4

Anticuerpos irregulares	Embarazos Si	Embarazos No	Total
Si	3	0	3
No	67	34	101
	70	34	104

HIPOTESIS:

Ho. La premisa de la presencia de anticuerpos irregulares es independiente de la presencia de embarazos.

Ha. La premisa de la presencia de anticuerpos irregulares es dependiente de la presencia de embarazos.

ESTADIGRAFO DE CONFIANZA: χ^2 teórica=9.12 n=300

a=3

$$\chi^2 = \frac{300 \{ [(3)(34) - (0)(67)] - 0.5(300) \}^2}{(70)(34)(3)(101)}$$

b=0

c=67

d=34

$\chi^2 = 0.958$

χ^2 calculada < χ^2 teórica por lo tanto Ha se rechaza.

CONCLUSION:

Ho es aceptada y por lo tanto se concluye que la presencia de anticuerpos irregulares no depende si el individuo ha tenido embarazos con anterioridad.

DISCUSION DE RESULTADOS

Por medio de los resultados obtenidos, se puede observar, que el porcentaje positivo en el rastreo de anticuerpos irregulares en la población del Hospital Regional 20 de Noviembre, es muy bajo, aproximadamente del 1.66 %. Dicho porcentaje es representativo con respecto a cinco donadores que presentaron ya sea transfusión sanguínea o embarazos y sólo un caso ambos.

En los anticuerpos irregulares encontrados se presentaron algunos problemas, los cuales se fueron resolviendo conforme avanzaba su investigación, y que a continuación se explican.

El primer anticuerpo encontrado fué de una probable especificidad anti- \bar{c} , del cual se sabe que es un anticuerpo caliente de tipo IgG y que es inmune irregular; en cuento a su identificación no se tubo mayor problema, ya que las reacciones positivas [aglutinación] respecto al panel coincidían totalmente [imagen no.2]. Posteriormente se fenotipo a los eritrocitos de la donadora y de esta manera se comprobó su presencia de anticuerpos irregulares ya que, al resultar probable fenotipo $R R$, la donadora no podía portar antígeno \bar{c} , ya que de ser así el autocontrol hubiera sido positivo por estar antígeno y anticuerpo

en la misma muestra.

(1,2,4,10)

Al rastrear anticuerpos en el suero de Lince Bustamante Celia Aidé se presentó un problema, ya que la imagen obtenida [imagen no.4] no coincidía totalmente con ninguna de las imágenes de los anticuerpos presentes de la carta del panel, por tal motivo se estudiaron las características que se obtuvieron en el rastreo con el semipanel, que consistían que era un anticuerpo frío, siendo su imagen más parecida a la de un anticuerpo con especificidad anti-M. Posteriormente se estudió mejor la carta y se observó que los eritrocitos No. 1,4,7 y 10 del panel, eran heterocigotos al sistema MN; se procedió a aumentar la cantidad de antígeno de dichas células para evitar el efecto de dosis, lo anterior se realizó adicionando dos gotas de una suspensión de eritrocitos al 5% del panel en vez de una por una del suero del donador. De esta manera en el segundo rastreo la imagen obtenida [imagen no.5] correspondía totalmente a la imagen del panel, la cual pertenecía a un anticuerpo con especificidad anti-M, aunque aún en las células No. 1,4, y 10 se seguía observando el efecto de dosis [en vez de tres cruces se observaba una cruz de aglutinación].

Posteriormente se rastreo un anticuerpo de una probable especificidad anti-P, con el cual se tuvieron problemas de identificación pues los resultados de la imagen obtenida [imagen no.7] no concordaban con ninguna de las imágenes de la

carta del panel, que aunque se parecía más a un anti-M por sus características [en frío]. No mostraba efecto de dosis en las células del panel No. 1,4,7 y 10, al observar que tanto el anti-M como el anti-P tenían la misma imagen con la carta del Centro Médico Nacional, se corrió el Panel comercial (AMTEC) completo, para poder diferenciarlos. Así se encontró su probable especificidad anti-P [imagen no.8].

(1,11,12)

De otra forma se pudo haber diferenciado por medio de la reacción con enzimas ya que el antígeno M es susceptible a estas pero el anti-P no y por lo tanto, al no estar presente, el antígeno no hubiera existido aglutinación.

(1,10)

Con el rastreo de los dos anticuerpos restantes probable anti-M y anti-Le^a no se presentó problema alguno, pues, los resultados del rastreo de anticuerpos irregulares para cada un fué totalmente parecida a la carta del panel. Para el anti-Le^a se fenotiparon los eritrocitos como estudio adicional [no.12] resultando Le^b concordando sus resultados.

Finalmente al analizar los resultados por medio de estadística matemática [χ^2], se encontró que existe una diferencia significativa entre la población de donadores que presentaban antecedentes transfusionales y/o embarazos y los que no lo presentan. Por este motivo al grupo con resultados

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

positivos en cuanto al rastreo de anticuerpos irregulares se subdividió en dos (1.-con antecedentes transfusionales 2.-con embarazos), ya al tener dos grupos, se plantearon tanto Hipótesis nula como alterna para cada uno de los grupos. Obteniendo como resultado que si existe diferencia entre los dos grupos de donadores, pues los donadores con antecedentes transfusionales presentaron resultados representativos y el otro grupo no.

CONCLUSIONES

Al realizar el estudio comparativo en la investigación de anticuerpos irregulares antieritrocitos, se planteó como innovación en la técnica el uso de LISS [solución de baja fuerza iónica], esperando como resultado que además de detectar cualquier anticuerpo potencializara la reacción, realizando el método en más corto tiempo y además sin que esta afectara ni al anticuerpo ni al eritrocito, cosa que se realizó con mucho éxito.

Con respecto al objetivo planteado se trataba de encontrar una posible diferencia entre los donadores con y sin antecedentes transfusionales y/o embarazos, ya que como es sabido las personas que tienen dichos antecedentes [embarazos y/o transfusiones] desencadenan una respuesta inmunitaria [desarrollando anticuerpos], de esta manera se esperaba que dicho grupo resultara representativo en cuanto a la presencia de anticuerpos irregulares, cosa que fué demostrada por medio de X².

Posteriormente al buscar una diferencia entre los donadores con antecedentes transfusionales y los donadores con embarazos, se encontró que el grupo representativo en cuanto a la presencia de anticuerpos irregulares fué el grupo con antecedentes

transfusionales, esto debido "probablemente" a que en la transfusion sanguínea los glóbulos rojos recibidos genéticamente son totalmente distintos para el receptor, no así en el caso del embarazo en el cual, si bien es cierto el producto porta el 50% de genes del padre y el 50% de genes propios de la madre, por este motivo al tener una probabilidad de reconocimiento genético de 10% en la transfusión y de un 50% en el embarazo, se piensa que la respuesta inmune es provocada más directamente en el caso de la treansfusión.

Como se puede observar en los resultados 4 de los anticuerpos encontrados son de tipo IgM, pero como solo se presentaron en el caso de los donadores que tenían antecedentes, se piensa que estos son anticuerpos irregulares [IgG]; una manera propia de diferenciarlos sería con la técnica con mercaptoetanol, ya que este destruye las IgG y las IgM no.

Finalmente podemos decir que se cumplió el objetivo, pues se encontro que si había diferencia significativa entre los donadores con antecedentes transfusionales y/o embarazos y los donadores que no presentaban antecedentes transfusionales, así mismo se acepta la hipótesis planteada, realizandose solo el rastreo de anticuerpos irregulares de manera rutinaria en el grupo de donadores que tengan antecedentes transfusionales y/o embarazos

BIBLIOGRAFIA

1.- Linares Jesús. "Inmunohematología y Transfusión"
3a.edición, Cromtip C.A. Caracas Venezuela. 1986.
pp. 53-147, 178-196.

2.- Mollison P.L. "Transfusión de Sangre en Medicina
Interna" Oxford, Blackuel. Publicaciones Científicas 1983.
pp. 155-216.

3.-Aguilar Angel Rolando "Inmunología Aplicada al Banco de
Sangre" 2a. edición. Impresiones Modernas S.A. Mex. D.F.
1986.
pp. 19-35, 68-71.

4.- Leavuell Byrds y Thomps J. Oscar "Hematología Clínica"
5a. edición. Interamericana Mex. D.F. 1986.
pp. 556-576.

5.- Siva de Rubio Margarita "Memorias de Curso del Banco de
Sangre " Centro Medico La Raza. IMSS. 1985.

6.- Davisohn Israel y Bernard Henry John "Diagnóstico Clínico por el Laboratorio" 7a. edición Salvat Editores S.A. Barcelona, España. 1986
pp. 357-421.

7.- Williams William J. "Introducción a la Hematología" 3a. edición. Mc Graw Hill Book Company. 1985.
pp. 1308-1319.

8.- Stites P. Daniel, Stobo D. John y Well Vivian. "Inmunología Básica y Clínica" 6a. edición. Manuel Moderno México 1988.
pp. 235-280.

9.- Lynch Matthew J. y Janey Raphael S. "Métodos de Laboratorio" 3a. edición. Interamericana Mex. D.F. 1988.
pp. 23-25, 845-910.

10.- Bryant Neville J. "An Introduction to Immunohematology" W.B. Saunders Company. Philadelphia, U.S.A.
pp. 246.

11.- Rodríguez Moyado, H y Cols. "La Patología Transfusional, experiencia en México, alteraciones Inmunohematológicas" Cac Med. Mex. 1971 pp. 101-66.

12.- Quintanar de Rodríguez Elisa. y Cols. "Utilidad del Laboratorio del Banco de Sangre en la Terapéutica Transfucional" Anuario de Actualización en Medicina IMSS IX (25) pp. 95-118 1977.

13.- Rodríguez Moyado Héctor y Quintanar de R. Elisa "Apuntes de Banco de Sangre" Banco de Sangre del Centro Médico Nacional IMSS 1985.

14.- Oberman H.A. Standards for blood banks and transfusion servis, 10th ed. Washington D.C. Ameican Association of Blood Banks, 1981.