

50524
38



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"ZARAGOZA"

**ELABORACIÓN DE UN MANUAL DE
PROCEDIMIENTOS DE TÉCNICAS
INMUNOHEMATOLÓGICAS UTILIZADAS
EN EL ÁREA DE PRUEBAS CRUZADAS
DE MEDICINA TRANSFUSIONAL**

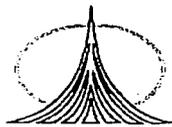
T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

P R E S E N T A

MARCELA GALEANA MARTÍNEZ

DIRECTOR DE TESIS: M. en C. Raquel Retana Ugalde



Unidad en la Universidad
Zaragoza, Francia al Siglo XXI

JULIO 2003

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

1



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 esta 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.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES "ZARAGOZA"
CARRERA DE Q. F. B.

Nombre: Galeana Martínez Marcela

No. Cuenta: 8316649-7

No. Folio: 16576

Año en que termina la carrera: 1994

Orientación: Bioquímico-clínico

Título del proyecto: Elaboración de un manual de procedimientos de técnicas inmunohematológicas utilizadas en el área de pruebas cruzadas de medicina transfusional.

Área específica del proyecto: Banco de sangre

Nombre del asesor: M. en C. Raquel Retana Ugalde

Lugar donde se desarrolló el trabajo: Banco de Sangre, C. M. N. "20 de Noviembre" I. S. S. S. T. E.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

INDICE

	Página
Introducción	1
Fundamentación teórica	3
Antecedentes	9
Planteamiento del problema	10
Objetivo	10
Material y método	10
Determinación del Grupo Sanguíneo del Sistema ABO	12
1.0 Objetivo	13
2.0 Importancia clínica de la determinación	13
3.0 Método	14
3.1 Preparación del paciente	15
3.2 Condiciones de manejo de la muestra	15
3.3 Material y aparatos	15
3.4 Reactivos	16
3.5 Instrucciones	16
3.6 Interpretación de resultados	18
3.7 Informe de resultados	19
3.8 Interferencias-Errores	20
4.0 Frecuencia de Grupos Sanguíneos del Sistema ABO	20
5.0 Intensidad de la reacción Antígeno-Anticuerpo	21
6.0 Material suplementario	22
Determinación del Grupo Sanguíneo del Sistema Rh (D)	23
1.0 Objetivo	24
2.0 Importancia clínica de la determinación	24
3.0 Método	25
3.1 Preparación del paciente	25
3.2 Condiciones de manejo de la muestra	25

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.3	Material y aparatos	26
3.4	Reactivos	26
3.5	Instrucciones	26
3.6	Interpretación de resultados	27
3.7	Informe de resultados	29
3.8	Interferencias-Errores	29
4.0	Frecuencia de Grupos Sanguíneos del Sistema Rh (D)	30
5.0	Intensidad de la reacción Antígeno-Anticuerpo	31
6.0	Material suplementario	32
<i>Determinación del Antígeno D de expresión débil (D^u)</i>		33
1.	Objetivo	34
2.	Importancia clínica de la determinación	34
3.	Método	35
3.1	Preparación del paciente	36
3.2	Condiciones de manejo de la muestra	36
3.3	Material y aparatos	36
3.4	Reactivos	37
3.5	Instrucciones	37
3.6	Interpretación de resultados	41
3.7	Informe de resultados	42
3.8	Interferencias-Errores	42
4.0	Intensidad de la reacción Antígeno-Anticuerpo	43
5.0	Material suplementario	44
<i>Prueba de Coombs Directo</i>		45
1.0	Objetivo	46
2.0	Importancia clínica de la determinación	46
3.0	Método	47
3.1	Preparación del paciente	48
3.2	Condiciones de manejo de la muestra	48

3.3	Material y aparatos	48
3.4	Reactivos	49
3.5	Instrucciones	49
3.6	Interpretación de resultados	53
3.7	Informe de resultados	55
3.8	Interferencias-Errores	55
4.0	Intensidad de la reacción Antígeno-Anticuerpo	56
5.0	Material suplementario	58

Pruebas Cruzadas de Compatibilidad 59

1.0	Objetivo	60
2.0	Importancia clínica de la determinación	60
3.0	Método	64
3.1	Preparación del paciente	67
3.2	Condiciones de manejo de la muestra	67
3.3	Material y aparatos	67
3.4	Reactivos	68
3.5	Instrucciones	68
3.6	Interpretación de resultados	77
3.7	Informe de resultados	79
3.8	Reidentificación y control clínico del receptor	79
3.9	Interferencias-Errores	80
4.0	Intensidad de la reacción Antígeno-Anticuerpo	81
5.0	Material suplementario	82

Anexo 83

Control de calidad 83

Control de calidad de reactivos 83

- Normas generales 83
- Especificidad de los sueros Anti-A, Anti-AB y Anti-B. 87
- Especificidad de los sueros Anti-D y Control Rh 90

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

• Aidez de los sueros hemoclasificadores Anti-A, Anti-AB, Anti-B y Anti-D	93
• Titulación del suero Antiglobulina Humana (AGH)	96
• Hoja de control de calidad diario de reactivos	101
<i>Comentarios finales y perspectivas</i>	102
<i>Glosario de abreviaturas</i>	103
<i>Referencias bibliográficas</i>	105

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

INTRODUCCIÓN

La transfusión de sangre y sus componentes forma parte de la práctica clínica cotidiana de las diversas especialidades en medicina y es indiscutible su beneficio, sin embargo, también estamos concientes de sus riesgos a pesar de los avances científicos y de la rigurosa normatividad en este ámbito. ⁽¹⁾

La tarea primordial en la medicina transfusional es la transfusión segura. La mejor manera de alcanzar este objetivo y asegurar la calidad reside en contar con manuales de procedimientos escritos y actualizados con las técnicas inmunohematológicas utilizadas en el servicio de medicina transfusional y además, ubicados en lugares estratégicos en donde estén al alcance del personal químico y laboratorista que laboran en este servicio

Toda operación de un Banco de Sangre o centro de colecciones y/o procesamientos de componentes de la sangre tienen que funcionar bajo la guía estricta de un manual de procedimientos, conocido, leído y entendido por todos los empleados en las respectivas áreas funcionales. En forma periódica se debe documentar y poder demostrar en forma objetiva que el personal que usa los distintos procedimientos esta totalmente familiarizado con el manual y las modificaciones que se han introducido. ⁽²⁾

La calidad de los servicios realizados por el banco de sangre o servicios de transfusión esta basada en la estricta adherencia a las instrucciones descritas en el manual de procedimientos.

El manual de procedimientos pasa a tener una importancia primordial ya que se convierte en el punto central de referencia operativa, legal y que sirve de fundamento y plataforma para el desarrollo e implementación del programa de calidad total y mejoramiento continuo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

El objetivo principal de este manual es servir como una guía de consulta para el trabajo que se realiza día a día en el servicio de medicina transfusional y de esta manera garantizar la calidad del servicio y de los productos sanguíneos que se transfunden.

Este manual nos va ayudar a mejorar la calidad de nuestro trabajo diario para beneficio directo de los pacientes.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

La NOM-003-SSA2-1993 para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos, establece el marco técnico legal a través del cual deben trabajar los bancos de sangre y servicios de transfusión en nuestro país y asimismo establece que deberán contar con métodos de control de calidad para garantizar la efectividad y funcionalidad de equipos reactivos y técnicas, así como la viabilidad y seguridad de la sangre y sus componentes, sin embargo, para lograr estos objetivos, se requiere implantar sistemas de calidad necesarios para la certificación, o la acreditación de la Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB).^(3,4)

Calidad

Según la norma ISO 8402, la Calidad es el conjunto de propiedades y características de un producto o servicio que le confieren su aptitud para satisfacer unas necesidades expresadas o implícitas, es decir, se define como la adecuación de un producto o servicio al uso a que esta destinado.^(4,6,7)

"La calidad debe dirigirse a las necesidades presentes y futuras de los consumidores".⁽⁵⁾

La calidad de la atención médica se define como: "Otorgar atención médica conforme a las normas de calidad, conocimientos de la medicina y tecnología vigentes, con oportunidad, amabilidad, trato personalizado, comunicación permanente entre los participantes en el acto médico o paramédico en un ambiente confortable, que permita mejorar el nivel de salud y la satisfacción del usuario y del trabajador con el propósito de que contribuyan a mejorar la calidad de vida".⁽⁸⁾

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

El Consejo Canadiense de Atención de Servicios de Salud define la calidad como: realizar el procedimiento *correcto*, hacerlo *bien* y satisfacer al *cliente*. Todos los sistemas de salud están ante la necesidad de afrontar el doble reto de trabajar con recursos financieros limitados y de que las expectativas del público y del gobierno van en aumento. ⁽⁶⁾

El propósito de la Norma ISO 9000 es servir como un conjunto de criterios contra los cuales es posible medir la calidad. ⁽⁶⁾

La norma abarca todas las actividades necesarias para asegurar la calidad del servicio o producto terminado. ⁽⁶⁾

La documentación en un Sistema de Calidad

La documentación es uno de los pilares básicos en que se fundamenta un Sistema de Calidad. Por un lado, es el soporte para definir objetivos, planes, formas de trabajo e instrucciones y, por otro lado, constituye la base para poder comprobar que todos estos objetivos, planes e instrucciones se han cumplido según lo previsto. ⁽⁷⁾

Los Servicios de Banco de sangre mantendrán en sus instalaciones copias de leyes, normas y reglamentos oficiales de su país, estado y de las regulaciones institucionales que definan o afecten su funcionamiento. Cada servicio de Banco de Sangre producirá y mantendrá sus propios manuales de procedimientos administrativos, de procedimientos técnicos y del sistema de calidad y se asegurará de la vigencia y pertinencia de los mismos. ⁽⁵⁾

Los Servicios de Banco de Sangre definirán y documentarán los mecanismos de producción, revisión y aprobación de sus manuales de procedimientos administrativos, de procedimientos técnicos y del sistema de calidad. La revisión y aprobación de los manuales vigentes, una vez revisados y aprobados, serán

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

dados a conocer al personal que realiza las funciones pertinentes, quien firmará como recibido y enterado de su contenido. Las versiones obsoletas de procedimientos deberán mantenerse disponibles a los Servicios de Banco de Sangre por lo menos cinco años después de su caducidad, o de acuerdo a las leyes y regulaciones locales. ⁽⁵⁾

Los cambios en los documentos deberán ser revisados y aprobados en la misma manera que la revisión y aprobación original, a menos que se establezca específicamente un procedimiento diferente. Los individuos que tengan la autorización para revisar y aprobar cambios en los documentos deberán tener acceso a toda la información pertinente y necesaria para llevar a cabo la revisión y aprobación. ⁽⁵⁾

Los cambios aprobados a los documentos deberán ser comunicados por escrito a todo el personal de los Servicios de Banco de Sangre, previo a que aquellos entren en vigencia. La comunicación escrita deberá identificar claramente el cambio que se introdujo y la fecha de vigencia. Se deberá mantener el registro de estas comunicaciones. ⁽⁵⁾

La documentación de la Calidad está constituida por:

- El Manual de la Calidad.
- El Manual de Procedimientos.
- Las Instrucciones de trabajo
- Formularios, etiquetas, registros y especificaciones.

Esta documentación puede existir en soporte escrito o informático, pero son requisitos indispensables que se encuentre bien conservada, actualizada y que se pueda disponer de ella en todos aquellos lugares donde se necesite.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Manual de procedimientos

El Manual de Procedimientos nos describe actividades específicas o explicaciones detalladas de la metodología empleada para realizar el trabajo de cada departamento, son explicaciones sobre la forma de llevar a cabo los procesos. ⁽⁷⁾

En el Manual de Procedimientos se describe cómo se deben hacer las cosas, sin dejar ningún cabo suelto, para alcanzar la Calidad de los productos o servicios. ⁽⁷⁾

El Manual de Procedimientos puede facilitarle a la organización el cumplimiento de sus propósitos y objetivos de manera efectiva y ordenada. ⁽¹⁰⁾

Un Procedimiento: Es la descripción detallada, concreta y comprensible de todos los pasos que hay que seguir en el desarrollo de una actividad concreta. ⁽⁷⁾

La calidad es un concepto cambiante en el tiempo, según las necesidades. Un producto que era de calidad, puede dejar de serlo, no porque cambie el producto, sino porque cambia la necesidad de calidad de los clientes.

Los procedimientos escritos no sólo deben elaborarse correctamente en cuanto a su forma y contenido, sino que también deben conservarse y actualizarse; y lo que es más importante, deben cumplirse siempre, sin dejar lugar a las interpretaciones o a las variaciones. ⁽⁷⁾

El primer requisito que se recoge en el manual es la forma para la elaboración de las técnicas. En él se describirán las premisas que hay que tener en cuenta para la elaboración de procedimientos escritos, como son:

- a. La determinación de qué procedimientos se van a necesitar. Tan importante como asegurarse de que estén todos los procedimientos

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

escritos para llevar a cabo nuestra actividad, es que no existan documentos superfluos u obsoletos.

- b. El formato en que se va a elaborar.

Un procedimiento debe ser concreto, con un lenguaje sencillo, comprensible y preciso. Puede escribirse siguiendo un diagrama de flujo o puntos sucesivos.

- c. ¿Quién es la persona o personas encargadas de redactarlos?

Las personas que escriban los procedimientos deben conocerlos y comprenderlos a fondo y, por otra parte deben tener cualidades para una redacción concisa y comprensible.

Parece adecuado que los procedimientos los escriban las personas que están directamente implicadas en su realización habitual, con la ayuda del responsable de su área de trabajo.

- d. ¿Cuáles son los pasos a seguir para la validación y aprobación de un procedimiento? Antes de poner en práctica un procedimiento hay que realizarlo por lo menos cinco veces y revisar detenidamente su efectividad

- e. El tiempo previsto para su puesta en funcionamiento.

- f. Los puntos de distribución de los procedimientos.

Los procedimientos deben estar siempre disponibles en los lugares donde se necesiten

- g. Fijar revisiones periódicas, actualizándolas siempre que se produzca algún cambio y, aunque no los hubiera, se establecerá un calendario para su revisión.

- h. Método de archivo de los documentos y mecanismos para retirar los procedimientos obsoletos. No es extraño encontrar procedimientos que han sufrido modificaciones posteriores, y que ya no se usan, entre los procedimientos actualizados. Esto puede ser una importante fuente de errores, por lo que deben establecerse mecanismos para que esto no ocurra.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

El encabezado de todo procedimiento debe constar de los siguientes puntos:

- El título.
- La fecha de inicio.
- La persona que lo ha aprobado.
- La fecha o fechas de revisiones o actualizaciones posteriores.
- La persona que ha aprobado las revisiones.
- El ámbito de aplicación.
- Las personas que lo van a realizar. ⁽⁷⁾

A veces los procedimientos requieren explicaciones adicionales para su realización, que se recogerán en instrucciones de trabajo. Las cuales no están asignadas a personas concretas, y solamente explican la forma de realizar o utilizar algo.

Los procedimientos que requieran de alguna instrucción adicional se citarán en un anexo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ANTECEDENTES

Un manual es como un libro que contiene lo más sustancial de un tema, y en este sentido, los manuales son vitales para transmitir, incrementar y aprovechar el cúmulo de conocimientos y experiencias de personas y organizaciones. ⁽¹⁰⁾

Algunas organizaciones funcionan bien sin manuales, porque cuentan con "expertos" de mucha experiencia y preparación en el campo de especialidad del servicio, y todo (o casi todo) dentro del servicio, a simple vista marcha sin problemas. Sin embargo, el problema es la alta dependencia que tiene el servicio con estos expertos. Estos expertos son los más indicados para elaborar los manuales debido a sus conocimientos y experiencias. ⁽¹⁰⁾

La lógica y el sentido común de muchas personas reconocen el valor de los manuales, sin embargo, su elaboración todavía no es una práctica común dentro de los servicios. Esto se debe a tres causas principalmente: ⁽¹⁰⁾

1. Que no sean muy conocidas las técnicas y metodologías para elaborar manuales.
2. Que no reciba la importancia y el apoyo de los niveles directivos.
3. Que la elaboración y desarrollo de manuales requiere de tiempo por parte de los responsables de cada área, y este a veces es muy escaso.

Los manuales de procedimientos son herramientas que le facilitan al servicio, el cumplimiento de sus propósitos y objetivos de manera efectiva y ordenada. ⁽¹⁰⁾

La calidad de los servicios realizados en el banco de sangre o servicios de transfusión esta basada en la estricta adherencia a las instrucciones y pautas descritas en el manual de procedimientos, por lo que estos manuales deben ser conocidos, entendidos y asimilados por el personal que labora en el área.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuáles son los aspectos más importantes que debe contener un manual de procedimientos de técnicas inmunohematológicas para el área de pruebas cruzadas del servicio de medicina transfusional?

OBJETIVO

Elaborar un manual de procedimientos de técnicas inmunohematológicas que en este momento no existe y que es indispensable para el trabajo que se realiza a diario en el área de pruebas cruzadas del Banco de Sangre.

MATERIAL Y MÉTODO

Ante la necesidad de contar con un manual de técnicas inmunohematológicas, que nos apoyara en el trabajo diario que se realiza en el área de Pruebas Cruzadas, se hizo una revisión para determinar cuales eran los procedimientos empleados en este lugar, y se planteó que el manual debería contener las siguientes técnicas inmunohematológicas:

- Determinación del grupo sanguíneo del sistema ABO.
- Determinación del grupo sanguíneo del sistema Rh: Determinación del Rh(D)
- Determinación del grupo sanguíneo del sistema Rh: Determinación del Ag D de expresión débil.
- Prueba de Coombs directo.
- Pruebas de compatibilidad usando diferentes medios: salina, medio proteico (albúmina), medio de baja fuerza iónica (Liss), etc.
- Control de calidad de reactivos

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Por tal motivo se realizará una revisión de los principales procedimientos, su fundamento e importancia clínica.

Se hizo la revisión de varios manuales de procedimientos de otros Bancos de Sangre, prontuarios de técnicas inmunoematológicas y de algunos libros de inmunoematología y se seleccionó aquella información que estuviera más apegada a las técnicas que manejamos en nuestro servicio (aunque no había mucha diferencia entre todas), considerando el tipo de pacientes, recursos y tecnología disponible disponibles. También se consultó material procedente de congresos, simposios y cursos de medicina transfusional e Inmunoematología, con lo que se actualizó la información integrada a este trabajo.

Otra fuente de información, también muy importante fueron algunos libros de inmunoematología y medicina transfusional, con lo que se logró ampliar y reforzar algunos conceptos y principios de cada tema.

Cabe mencionar que en éste manual a diferencia de otros manuales consultados, se integró una capitulo muy importante que es el *Control de calidad de reactivos*, ya que este es parte del trabajo diario que se realiza en el área de pruebas cruzadas antes de empezar a trabajar en cada jornada que se labora.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Área: Pruebas cruzadas

Título: Determinación del Grupo Sanguíneo del Sistema ABO

Procedimiento No.: 001

En vigor el:

Sustituye a:

Próxima revisión:

Elaborado por: Galeana Martínez Marcela

Fecha:

Revisado y aprobado por:

Fecha:

Autorizado por:

Fecha:

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

DETERMINACIÓN DEL GRUPO SANGUÍNEO DEL SISTEMA ABO

(Método: Aglutinación en tubo)

1.0 Objetivo

Contar con una técnica que nos permita determinar la presencia o ausencia de los antígenos del Sistema ABO sobre la superficie del glóbulo rojo, así como la de los anticuerpos naturales regulares en el suero.

2.0 Importancia clínica de la determinación

El Sistema ABO fue el primer Sistema de grupos sanguíneo descubierto, es el grupo más importante en la medicina transfusional y ha tenido mucha importancia en el desarrollo de la transfusión sanguínea, pues la determinación del grupo ABO es el paso más importante de las pruebas serológicas pretransfusionales, aunque el estudio de los grupos sanguíneos ha contribuido a las ciencias como la etnología, antropología, genética y la medicina forense, el mayor beneficio se ha reflejado en la clínica de la transfusión sanguínea. ^(8 11)

Al efectuar un grupo ABO resulta ser más crítico que la determinación de anticuerpos irregulares, ya que la gran mayoría de los anticuerpos fuera del sistema ABO no causan reacciones hemolíticas graves y de los pacientes transfundidos sin la detección de anticuerpos irregulares un porcentaje muy elevado no sufre graves consecuencias, a diferencia de las secundarias a incompatibilidad ABO. ⁽⁸⁾

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.0 Método

En la membrana del glóbulo rojo se encuentran una gran cantidad de antígenos de grupos sanguíneos pertenecientes a varios sistemas. ^(12, 13)

Los antígenos del Sistema ABO tienen naturaleza química de carbohidratos. ⁽⁸⁾

La tipificación para el sistema ABO utiliza una reacción antígeno- anticuerpo que se expresa como aglutinación y/o hemólisis para poner de manifiesto la presencia o ausencia de los antígenos A y/o B , así como la presencia o ausencia de los anticuerpos naturales correspondientes.

El sistema ABO comprende dos partes: antígenos presentes en la membrana de los glóbulos rojos y sus correspondientes anticuerpos regulares presentes en el suero o plasma, por lo que la clasificación correcta de la sangre debe constar de:

- a) **Prueba directa:** Que consiste en la clasificación de los antígenos eritrocitarios del sistema ABO con anticuerpos conocidos (sueros comerciales Anti-A, Anti-AB y Anti-B).

- b) **Prueba inversa:** Que consiste en la clasificación de los anticuerpos regulares Anti-A y Anti-B en suero o plasma utilizando glóbulos rojos con antígenos conocidos (eritrocitos A₁, A₂, B y O), esta prueba confirma a la prueba directa. ⁽¹⁵⁾

La determinación del grupo ABO puede realizarse en tubo o en placa, el primero de los cuales ofrece una mayor sensibilidad.

El desarrollo de los antígenos A y B se inicia en etapas tempranas de la vida fetal, aproximadamente a las 6 semanas de vida y van incrementando lentamente hasta alcanzar al nacimiento el 50% de sitios antigénicos que presenta un adulto. La expresión máxima se alcanza a los tres años de vida. ^(8, 16, 17)

En receptores menores de 4 meses la prueba inversa puede no ser realizada ya que en este tipo de pacientes el desarrollo de los anticuerpos naturales todavía es inmaduro. ⁽¹⁶⁾

3.1 Preparación del paciente

Requiere un ayuno mínimo de 4 horas

3.2 Condiciones de manejo de la muestra

Tomar una muestra de sangre en un tubo con o sin anticoagulante e identificarlo perfectamente con el nombre completo del paciente, No. de expediente o registro, así como No. de cama y fecha en que la muestra fue tomada.

3.3 Material y aparatos

- Tubos de 10 X 75
- Pipetas Pasteur
- Aplicadores de madera
- Serófuga
- Gradillas
- Gasas
- Guantes

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.4 Reactivos

- Sueros comerciales Anti-A, Anti-AB y Anti-B
- Eritrocitos conocidos A₁, A₂, B y O, suspendidos al 3-5% en SSF
- Solución Salina Fisiológica

3.5 Instrucciones

- Realizar el control de calidad correspondiente a especificidad y avidez de los sueros hemoclasificadores Anti-A, Anti-AB y Anti-B, (Ver *ANEXO A: Control de calidad de reactivos*).
- Centrifugar la muestra del paciente 5 minutos a 3,400 rpm y separar el suero de los eritrocitos.

Prueba directa:

- Tomar una alícuota de eritrocitos del paciente, lavarlos 3 veces con SSF durante 1 minuto a 3,400 rpm cada lavado y preparar una suspensión al 3-5% en SSF
- Rotular 4 tubos como **Anti-A**, **Anti-AB**, **Anti-B** y **Auto** (autotestigo), como se muestra en el *Esquema 1*. Determinación de grupo sanguíneo
- En cada tubo colocar 1 gota de del antisuero apropiado.
- Añadir una gota de eritrocitos problema en cada tubo de ensayo.
- En el autotestigo (Auto) se colocan 2 gotas del suero del paciente y una gota de eritrocitos al 3-5% del mismo paciente.
- Homogenizar la mezcla con movimientos de agitación suave
- Centrifugar de 15 a 30 segundos a 3400 rpm
- Desprender el botón de células del fondo del tubo agitándolo suavemente, inclinarlo hasta la posición horizontal para apreciar

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

completamente la aglutinación y cuantificarla en cruces. Se puede usar ayuda visual si se considera necesario.

- Anotar inmediatamente, tubo en mano, los resultados de la agitación.

Esquema 1. Determinación de grupo sanguíneo:



Prueba inversa:

- Rotular 4 tubos como **Cel. A₁**, **Cel. A₂**, **Cel. B** y **Cel. O**, como lo muestra el Esquema 1
- En cada tubo colocar 1 gota de células al 3-5% de A₁, A₂, B y O según corresponda
- Añadir dos gotas del suero del paciente a cada tubo de ensayo.
- Homogenizar la mezcla con movimientos de agitación suave.
- Centrifugar de 15 a 30 segundos a 3,400 rpm.
- Observar el sobrenadante contra un fondo blanco bien iluminado para detectar hemólisis
- Desprender el botón de células del fondo del tubo agitándolo suavemente, inclinarlo hasta la posición horizontal y leerlo contra un fondo bien iluminado para apreciar completamente los aglutinados dispersos. Emplear ayuda visual si se considera necesario.
- Anotar inmediatamente, con tubo en mano, los resultados de la aglutinación

3.6 Interpretación de los resultados

La presencia de aglutinación se considera como un resultado positivo, sino hay aglutinación se considera negativo.

Una determinación correcta del grupo sanguíneo se efectúa realizando las dos pruebas directa e inversa simultáneamente con el autotestigo, ya que el autotestigo valida la reacción. ⁽¹⁴⁾

Las dos pruebas se practican simultáneamente porque ellas se complementan, el resultado de una verifica el resultado de la otra. ^(8, 14)

La imagen normal de los cuatro principales grupos sanguíneos del Sistema ABO se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Imagen de los Grupos Sanguíneos del Sistema ABO

GRUPO SANGUÍNEO	PRUEBA DIRECTA			AUTO-TESTIGO	PRUEBA INVERSA			
	Anti-A	Anti-AB	Anti-B		Col. A ₁	Col. A ₂	Col. B	Col. O
A	+	+	-	-	-	-	+	-
B	-	+	+	-	+	+	-	-
AB	+	+	+	-	-	-	-	-
O	-	-	-	-	+	+	+	-

Fuente: Instituto Mexicano del Seguro Social (21)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Determinación del Grupo Sanguíneo del Sistema ABO

Los resultados entre las dos pruebas deben ser concordantes, cuando no ocurre esto se dice que existe una *discrepancia* en el grupo sanguíneo y deben ser resueltas antes de reportar los resultados o realizar la transfusión. (8, 18, 19)

Las discrepancias en la determinación del SABO son el resultado de errores técnicos, problemas inherentes a las células o problemas inherentes al suero. (14)

Para solucionar problemas de discrepancia de grupos sanguíneos se cuenta con técnicas adicionales que se manejan en el área de inmunohematología especial.

Aunque, antes de iniciar un estudio minucioso del problema se recomienda:

- Revisar el protocolo de trabajo para observar si hubo error en la anotación de los resultados.
- Revisar las muestras estudiadas, precisando si son las apropiadas, si no hubo error en la identificación de ellas, de los tubos en los cuales se realizaron las pruebas, etc., es decir, revisar el procedimiento empleado
- Controlar la actividad de los reactivos empleados y las condiciones de las células
- Si se han cumplido los puntos anteriores y se encontraron en orden, repita todo el procedimiento siguiendo una técnica impecable. (14, 18)

3.7 Informe de resultados

Realizada la determinación del grupo sanguíneo, los resultados se registrarán en la solicitud de transfusión con posterior registro en las libretas oficiales.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.8 Interferencias-Errores

Errores técnicos comunes en discrepancias de Sistema ABO:

- No agregar reactivo o suero
- No identificar hemólisis
- Relación antígeno-anticuerpo
- Centrifugación
- Reactivos, eritrocitos, solución salina contaminada
- Relación inadecuada entre el suero o reactivo y las células rojas
- Empleo inadecuado de reactivos y células
- Incorrecta identificación de las muestras
- No lavar las células
- Contaminación bacteriana de las muestras
- Material de vidrio sucio
- Interpretación
- Reporte ^(8, 14)

4.0 Frecuencia de Grupos Sanguíneos del Sistema ABO

Tabla 2. Proporción de Grupos Sanguíneos del Sistema ABO en población de varias ciudades mexicanas

Grupos	Valle de México	Monterrey N. L.	Puebla Pue.
O	70.02 %	68.32 %	75.10 %
A	19.75 %	21.45 %	18.44 %
B	7.01 %	8.84 %	5.56 %
AB	1.22%	1.37 %	0.8 %

Fuente: Instituto Mexicano del Seguro Social (21)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

5.0 Intensidad de la reacción Antígeno-Anticuerpo

La intensidad de las reacciones antígeno-anticuerpo, cuando estas se efectúan por métodos manuales, la medimos por medio de la aglutinación, misma que se debe estandarizar por el personal que trabaja en los Servicios de Transfusiones y Banco de Sangre, de acuerdo a la Tabla 3.

Tabla 3. Intensidad de la Reacción Antígeno-Anticuerpo

Reactividad	Aglutinación	Puntuación
4+	Un solo botón celular	12
3+	Varios aglutinados grandes	10
2+	Varios aglutinados medianos	8
1+	Varios aglutinados grandes y pequeños	5
(+)	Varios aglutinados pequeños	3
g	Aglutinación muy débil	1
Neg	Ausencia de aglutinación	0

Fuente: Instituto Mexicano del Seguro Social (21)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

6.0 Material suplementario

Anexar el inserto vigente de los sueros hemoclasificadores.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Área: Pruebas cruzadas

Título: Determinación del Grupo Sanguíneo del Sistema Rh (D)

Procedimiento No.: 002

En vigor el:

Sustituye a:

Próxima revisión:

Elaborado por: Galeana Martínez Marcela

Fecha:

Revisado y aprobado por:

Fecha:

Autorizado por:

Fecha:

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

DETERMINACIÓN DEL GRUPO SANGUÍNEO DEL SISTEMA Rh (D)
(Método: Aglutinación en tubo)

1.0 Objetivo

Contar con una técnica que nos permita determinar la presencia o ausencia del factor Rh o antígeno D en la membrana del eritrocito por el método de aglutinación en tubo.

2.0 Importancia clínica de la determinación

El sistema Rh esta constituido por 5 antígenos D, E, C, e y c, es el más complejo de los sistemas de grupos sanguíneos eritrocitarios.

Después del sistema ABO, es el más importante de los sistemas sanguíneos humanos, ya que el antígeno D es altamente inmunogénico y tiene una gran trascendencia clínica dado que la mayoría de sujetos Rh negativo experimentan una inmunización primaria al factor Rh tras una sola exposición a eritrocitos Rh positivo, éstos entran a la circulación de un sujeto Rh(D) negativo ya sea, por transfusión sanguínea como por hemorragia transplacentaria. (8, 11, 17, 20)

En las pruebas pretransfusionales es obligatorio, conjuntamente con la determinación del sistema ABO, establecer la presencia o ausencia del factor Rh (D) tanto en el donante como en el receptor, para asegurarse que el paciente reciba este tipo de sangre. (14)

Su descubrimiento ha significado un aporte inmenso de la inmunohematología a la medicina clínica, porque permitió conocer y prevenir muchas de las reacciones hemolíticas transfusionales. Asimismo, permitió conocer la etiopatogenia y desarrollar la profilaxia de la enfermedad hemolítica del recién nacido. (14)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.0 Método

Los antígenos del sistema Rh se encuentran únicamente en humanos y en algunos primates. Son proteínas que se encuentran unidas a la membrana integral del eritrocito. ⁽⁸⁾

El sistema Rh se encuentra bien desarrollado al nacimiento.

La terminología *Rh positivo* y *Rh negativo* se usa para referirse a la presencia o ausencia del factor Rh o antígeno D, presente en la membrana del glóbulo rojo y desde el punto de vista clínico se considera que es suficiente dividir a los humanos en estos dos grupos. La distinción se hace clasificando los glóbulos rojos con el suero Anti-Rh o Anti-D producido en humanos. Las muestras de sangre que son aglutinadas por dicho suero se clasifican como *Rh (D) positivo* y denotan la presencia del antígeno Rh (D) en la membrana del eritrocito; las muestras que no muestran aglutinación son denominadas *Rh (D) negativas* y expresan la ausencia del antígeno D.

3.1 Preparación del paciente

Requiere un ayuno mínimo de 4 horas.

3.2 Condiciones de manejo de la muestra

Tomar una muestra de sangre en un tubo con o sin anticoagulante e identificarlo perfectamente con el nombre completo del paciente, No. de expediente o registro, así como No. de cama y fecha en que fue tomada la muestra.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.3 Material y aparatos

- Tubos de 10 x 75
- Pipetas Pasteur
- Aplicadores de madera
- Serófuga
- Gradillas
- Gasas
- Guantes

3.4 Reactivos

- Suero comercial Anti-D
- Suero comercial Control Rh
- Albúmina bovina al 22%
- Solución Salina Fisiológica

3.5 Instrucciones

- Realizar el control de calidad correspondiente a especificidad y avides del suero hemoclasificador Anti-D, tal y como se indica en el **ANEXO A: Control de Calidad de Reactivos**.
- Centrifugar la muestra del paciente 5 minutos a 3,400 rpm y separar el suero de los eritrocitos
- Tomar una alícuota de eritrocitos, lavarlos 3 veces durante 1 minuto a 3,400 rpm cada lavado y preparar una suspensión al 3-5 % en SSF.
- Rotular dos tubos: Uno como **Anti-D** y otro como **Control Rh** (Ver Esquema 2)
- Anadir una gota de la suspensión de eritrocitos al 3-5 % en cada tubo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Determinación del Grupo Sanguíneo del Sistema Rh (D)

- Adicionar una gota de suero Anti-D al tubo marcado como Anti-D.
- Al tubo marcado como Control Rh adicionar una gota de suero comercial Control Rh o bien Albúmina bovina al 22%, según lo especificado por el fabricante.

Esquema 2. Determinación del Rh (D)



- Homogenizar la mezcla con movimientos de agitación suave.
- Centrifugar a 3,400 rpm por 90 segundos o según las especificaciones del fabricante.
- Resuspender suavemente el botón de células del fondo del tubo y leer anotando grados de aglutinación por cruces, en cada tubo y reportar.

3.6 Interpretación de resultados

La aglutinación de los glóbulos rojos indica la presencia del antígeno D y se considera como un resultado positivo, sino hay aglutinación se considera negativo.

Seguir los siguientes esquemas como criterios de clasificación del antígeno Rh (D), Ver la Tabla 4.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 4. Criterios de Clasificación del antígeno Rh (D)

	Tubo Anti-D	Tubo Control Rh	Interpretación
Aglutinación	2+, 3+ o 4+	Neg	<i>Rh Positivo</i>
Aglutinación	(+) / g	Neg	<i>Posible D^U</i>
Aglutinación	Neg	Neg	<i>Rh Negativo o posible D^U</i>
Aglutinación	+	+	<i>Autoaglutinación</i>

- Si en el tubo marcado como Anti-D se obtiene una aglutinación de 2+, 3+ o 4+ y en el tubo marcado como Control Rh no hay aglutinación, en este caso no hay problema, ya que se está poniendo en evidencia el antígeno D y este resultado se reporta como:

Rh positivo

- Si en el tubo marcado como Anti-D se obtiene una aglutinación negativa o débilmente positiva y en el tubo marcado como control-Rh no hay aglutinación, se debe repetir la prueba y si se obtiene el mismo resultado, se procede a hacer la determinación del *antígeno D de expresión débil (D^U)*
- Si se presenta aglutinación en el tubo marcado como Anti-D y en el tubo marcado como control Rh, la prueba se invalida por ser una Autoaglutinación y se debe proceder a evaluar esta situación con pruebas especiales del área de inmunohematología.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.7 Informe de resultados

Realizada la determinación del grupo sanguíneo del Sistema Rh (D), los resultados se registrarán en la solicitud de transfusión con posterior registro en las libretas oficiales.

3.8 Interferencias-Errores

- Contaminación de las muestras de sangre, reactivo y/o materiales adicionales.
- Fibrina en el suero
- Deterioro de las inmunoglobulinas o anticuerpos por conservación inadecuada o caducidad.
- Muestras de sangre viejas, las cuales pueden dar reacciones débiles comparadas cuando se utilizan células frescas.
- Suspensión de células muy diluidas o muy concentradas.
- La colocación errónea de un determinado reactivo en el tubo que no le corresponde
- Bloqueo de los antígenos presentes en la membrana del eritrocito por exceso de anticuerpos
- Identificación de hemólisis como reacción negativa.
- Una excesiva centrifugación puede dar como resultado dificultad en la resuspensión del botón de células en la prueba en tubo.
- Examinación de la aglutinación inapropiada (generalmente una agitación muy fuerte) La resuspensión de las reacciones en los procedimientos de tubo se deben realizar con una agitación suave. Si se agita muy fuerte puede causar la dispersión de la aglutinación.
- Desviación del procedimiento de prueba recomendado
- No agregar el reactivo
- Bloqueo de los antígenos presentes en la membrana del eritrocito por exceso de anticuerpos

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

4.0 Frecuencia de Grupo Sanguíneo del Sistema Rh (D)

Tabla 5. Proporción de grupos Sanguíneos del Sistema Rh (D) en varias ciudades mexicanas

<i>Grupos Factor Rh (D)</i>	<i>Valle de México</i>	<i>Monterrey N. L.</i>	<i>Puebla Pue.</i>
Positivo	97.08 %	94.52 %	98.94 %
Negativo	2.92 %	5.47 %	1.06 %

Fuente: Instituto mexicano del Seguro Social (13, 21)

Tabla 6. Proporción de grupos Sanguíneos del Sistema Rh (D) en México y otros países de América

<i>Grupos Factor Rh (D)</i>	<i>México</i>	<i>Venezuela</i>	<i>Argentina</i>	<i>Estados Unidos (blancos)</i>
Positivo	97.36%	93.0%	85.0%	85.0%
Negativo	2.64%	7.0%	15.0%	15.0%

Fuente: Instituto Mexicano del Seguro Social (13), Radillo, 1999 (8)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

5.0 Intensidad de la reacción Antígeno-Anticuerpo

La intensidad de las reacciones antígeno-anticuerpo, cuando estas se efectúan por métodos manuales, la medimos por medio de la aglutinación, misma que se debe estandarizar por el personal que trabaja en los Servicios de Transfusiones y Banco de Sangre, de acuerdo a la Tabla 6.

Tabla 6. Intensidad de la reacción Antígeno-Anticuerpo

Reactividad	Aglutinación	Puntuación
4+	Un solo botón celular	12
3+	Varios aglutinados grandes	10
2+	Varios aglutinados medianos	8
1+	Varios aglutinados grandes y pequeños	5
(+)	Varios aglutinados pequeños	3
g	Aglutinación muy débil	1
Neg	Ausencia de aglutinación	0

Fuente: Instituto Mexicano del Seguro Social (23)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

6.0 Material Suplementario

Anexar insertos vigentes de reactivos

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Área: Pruebas cruzadas

Título: Determinación del Antígeno D de Expresión Débil (D^w)

Procedimiento No.: 003

En vigor el:

Sustituye a:

Próxima revisión:

Elaborado por: Galeana Martínez Marcela

Fecha:

Revisado y aprobado por:

Fecha:

Autorizado por:

Fecha:

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

DETERMINACIÓN DEL ANTÍGENO D DE EXPRESIÓN DÉBIL (D^U)

1.0 Objetivo

Contar con una técnica que nos permita determinar la presencia o ausencia del antígeno D de expresión débil (D^U) en la membrana del glóbulo rojo.

2.0 Importancia clínica de la determinación

Los glóbulos rojos que no son inmediatamente aglutinados, no pueden ser fácilmente clasificados como Rh negativo, porque algunos de los glóbulos Rh positivo, quizás no sean directamente aglutinados por el suero Anti-D. Los glóbulos rojos son D positivos porque el antígeno D está presente, pero pruebas adicionales como la antiglobulina humana (AGH) quizás sea requerida para demostrar la presencia del antígeno D de expresión débil (D^U).

El D^U en donadores. La idea ampliamente difundida de que no se debe transfundir sangre D^U a receptores con antígeno Rh(D) negativo, se basa en el hecho de que los eritrocitos D^U, aunque sólo son débilmente D positivos, podrían provocar una respuesta inmune frente al antígeno D. Aunque la sangre D^U es menos inmunogénica que el antígeno D positivo, todos los donadores con D^U se deben clasificar como Rh (D) positivo, ya que los eritrocitos D^U pueden sufrir una hemólisis acelerada si se introducen en la circulación de un receptor cuyo suero ya contenga Anti-D.

El D^U en receptores. Teóricamente un receptor D^U, puesto que es D positivo puede recibir sangre Rh positivo sin riesgo de ser inmunizado. Sin embargo, si la condición D^U de los eritrocitos significa que carecen parcialmente del mosaico D, existe la posibilidad de que esta sangre provoque la aparición de una forma de Anti-D.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Los Estándares de la Asociación Americana de los Bancos de Sangre (AABB) establecen que las muestras de sangre de donadores que no reaccionan con Anti-D, deben ser analizadas para determinar si no son D^u y deben etiquetarse como D positivo si el resultado de la prueba es positivo. ⁽⁶⁾

Los receptores Rh negativo clasificados erróneamente como Rh positivo por la prueba D^u corren el riesgo de quedar inmunizados frente al antígeno D. ⁽⁶⁾

3.0 Método

Inicialmente se pensó que los eritrocitos pudieran clasificarse solamente como Rh positivos y Rh negativos, pero algunas diferencias encontradas en la hemoclasificación del antígeno D, condicionaron lo siguiente: ⁽¹⁷⁾

El término D^u fue introducido por Straton en 1946, como una definición descriptiva para glóbulos rojos D positivo que fueron aglutinados débilmente y solamente por ciertos antisueros.

Estos fenotipos D^u pueden surgir por diversas circunstancias genéticas diferentes:

- ▶ El gen D codifica un antígeno "D" débilmente reactivo; esta característica aparentemente es esencialmente cuantitativa y condiciona a una disminución en el número de moléculas de la proteína D en la superficie del glóbulo rojo
- ▶ Un efecto de "posición trans", según el cual en algunos genotipos, el gen "C" en un cromosoma, parcialmente suprime la expresión del gen "D" en el otro.

Este método se basa en que los glóbulos rojos que posean un antígeno D débil pueden dar una reacción negativa o perceptiblemente más débil que lo normal en la fase de aglutinación directa con el suero Anti-D en la prueba, pero dará normalmente aglutinación definitiva con la antiglobulina humana (suero de

Coombs). La no aglutinación en la fase de antiglobulina indica que, el antígeno D capaz de ser detectado por este reactivo, no está presente en las células probadas. (13, 17)

3.1 Preparación del paciente

Requiere un ayuno mínimo de 4 horas.

3.2 Condiciones de manejo de la muestra

Tomar una muestra de sangre en un tubo con o sin anticoagulante e identificarlo perfectamente con el nombre completo del paciente, No. de expediente o registro, así como No. de cama y fecha en que fue tomada la muestra.

3.3 Material y aparatos

- Tubos de 10 x 75
- Pipetas Pasteur
- Aplicadores de madera
- Serófuga
- Baño María a 37°C con termómetro
- Gradilla
- Gasas
- Guantes

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.4 Reactivos

- Suero comercial Anti-D
- Suero comercial Control Rh
- Albúmina bovina al 22%
- Suero Antiglobulina Humana (Suero de Coombs)
- Solución Salina Fisiológica
- Suspensión del 3-5% de eritrocitos sensibilizados

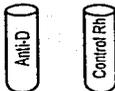
3.5 Instrucciones

- Además del control de calidad que se le realiza al suero Anti-D, también se tiene que realizar el control de calidad correspondiente a Titulación del suero Antiglobulina Humana (AGH), tal y como se indica en el ANEXO A *Control de Calidad de Reactivos*.

Cuando el resultado de la prueba para determinar el antígeno D es débilmente positiva o negativa, se debe repetir la prueba, si la segunda determinación es igual que la primera, se prosigue de la siguiente manera:

- Incubar a 37°C durante 15-30 minutos los mismos tubos de la reacción (Ver Esquema 3)

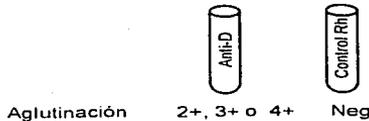
Esquema 3. Determinación del D^w



Determinación del Antígeno D de expresión débil (D^u)

- Centrifugar 90 segundos a 3,400 rpm.
- Leer, determinando el grado de aglutinación presente en cada tubo y reportar.
- Si se observa una aglutinación macroscópica (2+, 3+ o 4+), no es necesario continuar. Las células de prueba son D positivo, como lo muestra el siguiente Esquema 4.

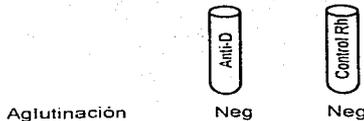
Esquema 4. Determinación del D^u



En este caso el resultado se reporta así: **Rh positivo**
o
Ag D positivo

- Pero si la imagen obtenida fuera la mostrada en el Esquema 5.

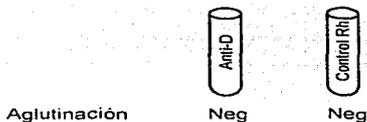
Esquema 5. Determinación del D^u



Determinación del Antígeno D de expresión débil (D^u)

- Lavar las células que han mostrado un resultado negativo o dudoso, por lo menos 3 veces con solución salina fisiológica durante 1 minuto cada lavado a 3,400 rpm, teniendo cuidado de decantar la salina entre cada lavado y de resuspender las células por completo cuando se añada la salina para el siguiente lavado.
 - Después del último lavado decantar perfectamente la solución salina y con un papel absorbente o gasa secar el borde de los tubos inclinados.
 - Agregar 1 gota del suero de Coombs (AGH) y mezclar perfectamente.
 - Centrifugar de 15 a 30 segundos a 3,400 rpm.
 - Leer observando ausencia o grado de aglutinación en cada tubo y reportar.
-
- Si se obtiene la imagen mostrada en el Esquema 6.

Esquema 6. Determinación del D^u

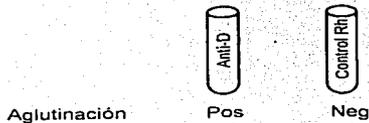


El resultado se reporta como : D^u negativo
O
Rh negativo

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- Pero si la imagen es la mostrada en el Esquema 7.

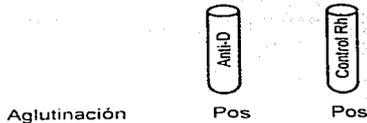
Esquema 7. Determinación del D^u



El resultado se reporta como: D^u positivo

- Si la imagen obtenida es la mostrada en el Esquema 8.

Esquema 8. Determinación del D^u



El resultado se invalida, ya que el tubo marcado como Control Rh debe dar un resultado negativo para validar la tipificación.

El reactivo marcado como Control Rh contiene la misma solución que tiene el suero Anti-D a excepción del anticuerpo Anti-D.

- *Consumo de la Antiglobulina Humana*

Cuando una técnica se ha llevado hasta Coombs y el resultado es negativo se completa con la prueba del *consumo de la antiglobulina* para asegurarse que la antiglobulina quedó libre.

Esta prueba se basa en que el suero de Coombs que no reaccionó, se utilice o consuma cuando se le agreguen glóbulos rojos sensibilizados y se realiza de la siguiente manera:

- Los tubos que en la prueba de Coombs hayan dado un resultado negativo, se les agrega una gota de glóbulos rojos sensibilizados (previamente lavados y suspendidos al 3-5% en SSI).
- Centrifugar de 15 a 30 seg. A 3,400 rpm.
- Leer aglutinación.

El resultado debe ser positivo, lo que asegura una reacción negativa verdadera. ⁽²¹⁾

3.6 Interpretación de resultados

La aglutinación indica un resultado positivo para el antígeno D, es decir; el antígeno D esta expresado débilmente. El tubo marcado como Control Rh debe ser negativo, en caso contrario investigar con técnicas inmunohematológicas especiales la causa de la autoaglutinación.

Ver resultados según el esquema obtenido como se muestra en las instrucciones.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.7 Informe de resultados

Realizada la determinación del antígeno D de expresión débil (D^w), los resultados se registrarán en la solicitud de transfusión o en la libreta de registro de donadores.

3.8 Interferencias-Errores

- Contaminación de las muestras de sangre, reactivo y/o materiales adicionales.
- Temperatura o tiempo de incubación inapropiados.
- Deterioro de las inmunoglobulinas o anticuerpos por conservación inadecuada.
- Muestras de sangre viejas, las cuales pueden dar reacciones débiles comparadas cuando se utilizan células frescas
- Suspensión de células muy diluidas o muy concentradas.
- La colocación errónea de un determinado reactivo en el tubo que no le corresponde
- Una excesiva centrifugación puede dar como resultado dificultad en la resuspensión del botón de células en la prueba en tubo.
- Examinación de la aglutinación inapropiada (generalmente una agitación muy fuerte) La resuspensión de las reacciones en los procedimientos de tubo se deben realizar con una agitación suave. Si se agita muy fuerte puede causar la dispersión de la aglutinación.
- Desviación del procedimiento de prueba recomendado. ^(8,14)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

4.0 Intensidad de la reacción Antígeno-Anticuerpo

La intensidad de las reacciones antígeno-anticuerpo, cuando estas se efectúan por métodos manuales, la medimos por medio de la aglutinación, misma que se debe estandarizar por el personal que trabaja en los Servicios de Transfusiones y Banco de Sangre, de acuerdo a la Tabla 8.

Tabla 8. Intensidad de la reacción Antígeno-Anticuerpo

Reactividad	Aglutinación	Puntuación
4+	Un solo botón celular	12
3+	Varios aglutinados grandes	10
2+	Varios aglutinados medianos	8
1+	Varios aglutinados grandes y pequeños	5
(+)	Varios aglutinados pequeños	3
g	Aglutinación muy débil	1
Neg	Ausencia de aglutinación	0

Fuente: Instituto Mexicano del Seguro Social (21)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

5.0 Material suplementario

Anexar insertos vigentes de los reactivos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Área: Pruebas cruzadas

Título: Prueba de Coombs Directo

Procedimiento No.: 004

En vigor el: *Sustituye a:*

Próxima revisión:

Elaborado por: Galeana Martínez Marcela

Fecha:

Revisado y aprobado por:

Fecha:

Autorizado por:

Fecha:

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

PRUEBA DE COOMBS DIRECTO

1.0 Objetivo

Establecer una técnica inmunohematológica que nos permita saber si los glóbulos rojos de un paciente han sido sensibilizados en su propio organismo (sensibilización *in vivo*).

2.0 Importancia clínica de la determinación

La prueba de la antiglobulina humana directa (Prueba de Coombs directo), es usada para detectar la sensibilización *in vivo* de los glóbulos rojos y nos demuestra la presencia de eritrocitos recubiertos con anticuerpos y complemento. ⁽⁸⁾

Es de gran valor en el diagnóstico de la:

- a) Enfermedad hemolítica del recién nacido.
- b) Anemia hemolítica autoinmune.
- c) Anemia hemolítica y sensibilización inducida por drogas.
- d) Investigación de reacciones transfusionales. ^(8, 14, 16 17)

En los casos anteriores se presenta una destrucción precoz de los eritrocitos debido a anticuerpos específicamente dirigidos a antígenos eritrocitarios. En la Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido (EHRN), la madre es la que forma anticuerpos, contra los eritrocitos del recién nacido, quien posee antígenos heredados del padre y de los que la madre carece. ⁽¹³⁾

En la Anemia Hemolítica Autoinmune, el paciente afectado por una regulación defectuosa de su respuesta inmune, es capaz de desarrollar anticuerpos (autoanticuerpos) contra sus propios eritrocitos. ⁽¹³⁾

En la investigación de las Reacciones transfusionales; los pacientes sometidos frecuentemente a transfusiones de eritrocitos, pueden desarrollar también anticuerpos. ⁽¹³⁾

3.0 Método

La fijación de anticuerpos IgM a los glóbulos rojos generalmente producen aglutinación, por el contrario, los anticuerpos IgG se fijan a los glóbulos rojos, pero generalmente no producen aglutinación.

La sensibilización de los glóbulos rojos por IgG puede detectarse mediante la técnica de la antiglobulina humana (prueba de Coombs). ⁽⁸⁾

El principio de la prueba de antiglobulina humana es, detectar inmunoglobulinas de clase IgG y/o fracciones del complemento C3d, unidos a los glóbulos rojos. ^(8, 14)

El fundamento de la prueba de antiglobulina se basa en los siguientes principios:

- 1) Los anticuerpos y complemento humano son globulinas diferentes a las de otras especies, comportándose así como antígenos cuando se inyectan en otros organismos.
- 2) Si se inyecta a un conejo globulinas humanas purificadas, el animal las reconoce como extrañas y elabora anticuerpos contra ellas. Estos anticuerpos tendrán especificidad antiglobulina humana.
- 3) Si las moléculas de la globulina, sean anticuerpos o complemento, se fijan en la membrana del glóbulo rojo, el suero antiglobulina se combinará con ellas y causará aglutinación de las células. En cambio, si los glóbulos rojos no están sensibilizados, no habrá aglutinación. ⁽¹⁷⁾

La sensibilización de los glóbulos rojos se detecta con la antiglobulina directa, se fundamenta en que detecta anticuerpo o complemento unido al glóbulo rojo y es positiva cuando la sensibilización del glóbulo rojo es *in vivo*. (8, 16, 17)

La prueba de Coombs Directo sirve para poner de manifiesto los anticuerpos IgG; los cuales no provocan una aglutinación visible. (8)

3.1 Preparación del paciente

Requiere ayuno mínimo de 4 horas.

3.2 Condiciones de manejo de la muestra

Tomar una muestra de sangre en un tubo con anticoagulante EDTA e identificarlo perfectamente con el nombre completo del paciente, No. de expediente o registro, así como No. de cama y fecha en que fue tomada la muestra.

3.3 Material y aparatos

- Tubos de 10 x 75
- Pipetas Pasteur
- Aplicadores de madera
- Serófuga
- Gradilla
- Gasas
- Guantes

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.4 Reactivos

- Suero antiglobulina humana poliespecífico (Suero de Coombs)
- Solución Salina Fisiológica
- Suspensión del 3-5% de glóbulos rojos sensibilizados (G.R.S.)
- Suspensión del 3-5% de glóbulos rojos no sensibilizados (G.R.N.S.)

3.5 Instrucciones

- Realizar el control de calidad correspondiente a Titulación del Suero Antiglobulina Humana (AGH), tal y como se indica en el *ANEXO A: Control de calidad de reactivos.*

Preparación de los glóbulos rojos

- Marcar tres tubos : uno como **PROB.** (Problema, eritrocitos del paciente), otro como **G.R.S.** (Glóbulos Rojos Sensibilizados) y el tercero como **G.R.N.S.** (Glóbulos Rojos No Sensibilizados), como se muestra en el *Esquema 9.*

Esquema 9. Preparación de glóbulos rojos

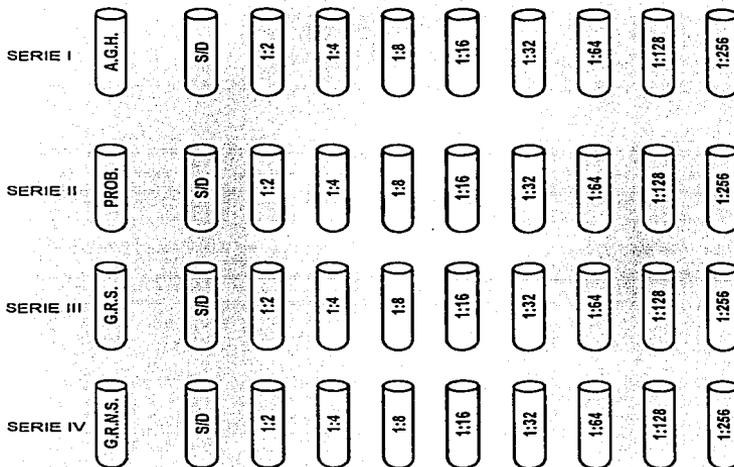


- Colocar en cada tubo, una gota de glóbulos rojos como corresponda.
- Lavar los tres tubos marcados, tres veces con SSI a 3.400 rpm durante un minuto cada lavado y resuspender las células del 2-5%.

Preparación del suero de Coombs (AGH)

- Preparar un esquema de trabajo , marcando 4 series de tubos para tener diluciones progresivas del suero de Coombs (AGH), que Irán desde AGH sin diluir hasta la dilución 1:256, como se muestra en el Esquema 10.

Esquema 10. Diluciones del suero de Coombs



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

SERIE I: Para preparar las diluciones progresivas del suero de Coombs.

- A partir del tubo 1:2 hasta el tubo 1:256 colocar 15 gotas de SSF.
- Al tubo 1:2 agregar 15 gotas del suero de Coombs y homogenizar.
- Pasar del tubo 1:2 al tubo 1:4 15 gotas de la dilución y homogenizar.
- Pasar del tubo 1:4 al tubo 1:8 15 gotas de la dilución y homogenizar.
- Pasar del tubo 1:8 al tubo 1:16 15 gotas de la dilución y homogenizar.
- Pasar del tubo 1:16 al tubo 1:32 15 gotas de la dilución y homogenizar.
- Pasar del tubo 1:32 al tubo 1:64 15 gotas de la dilución y homogenizar.
- Seguir la misma secuencia hasta tubo 1:256, donde se deben descartar 15 gotas.

SERIE II, III Y IV:

- Colocar en los tubos de las SERIES II, III y IV marcados como S/D, dos gotas del suero de Coombs sin diluir directamente del frasco.
- Del tubo marcado como 1:2 de la SERIE I, tomar una muestra de la dilución y colocar dos gotas a los tubos de la SERIE II, SERIE III y SERIE IV marcados como 1:2.
- Del tubo marcado como 1:4 de la SERIE I, tomar una muestra de la dilución y colocar dos gotas a los tubos de la SERIE II, SERIE III y SERIE IV marcados como 1:4.
- Del tubo marcado como 1:8 de la SERIE I, tomar una muestra de la dilución y colocar dos gotas a los tubos de la SERIE II, SERIE III y SERIE IV, marcados como 1:8.
- Del tubo marcado como 1:16 de la SERIE I, tomar una muestra de la dilución y colocar dos gotas a los tubos de la SERIE II, SERIE III y SERIE IV, marcados como 1:16.
- Del tubo marcado como 1:32 de la SERIE I, tomar una muestra de la dilución y colocar dos gotas a los tubos de la SERIE II, SERIE III y SERIE IV, marcados como 1:32.

- Del tubo marcado como 1:64 de la SERIE I, tomar una muestra de la dilución y colocar dos gotas a los tubos de la SERIE II, SERIE III y SERIE IV, marcados como 1:64.
- Del tubo marcado como 1:128 de la SERIE I, tomar una muestra de la dilución y colocar dos gotas a los tubos de la SERIE II, SERIE III y SERIE IV, marcados como 1:128.
- Del tubo marcado como 1:256 de la SERIE I, tomar una muestra de la dilución y colocar dos gotas a los tubos de la SERIE II, SERIE III y SERIE IV, marcados como 1:256.

- Adicionar a cada tubo de la SERIE II, una gota de la suspensión al 2-5% de los glóbulos rojos problema y mezclar suavemente.
- Adicionar a cada tubo de la SERIE III, una gota de la suspensión al 2-5% de los G.R.S. y mezclar suavemente.
- Adicionar a cada tubo de la SERIE IV, una gota de la suspensión al 2-5% de los G.R.N.S. y mezclar suavemente.
- Centrifugar todas las series a 3,400 rpm por 15-30 segundos.
- Leer cada tubo y anotar el grado de la aglutinación en la siguiente tabla:

		DILUCIONES DEL SUERO DE COOMBS								
		S/D	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256
SERIE II	PROB.									
SERIE III	G.R.S.									
SERIE IV	G.R.N.S.									
	Consumo AGH									

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Consumo del suero de Coombs (CAGH)

Es la validación de la prueba de Coombs, que se basa en que el suero de Coombs que no reaccionó, se utilice o consuma cuando se le agreguen glóbulos rojos sensibilizados y se realiza de la siguiente manera: ^(15, 21)

- Los tubos que en la prueba de Coombs hayan dado resultado negativo, se le agrega una gota de la suspensión de glóbulos rojos al 3-5% sensibilizados (G.R.S.)
- Centrifugar 15-30 segundos a 3,400 rpm.
- Leer los resultados.

La presencia de aglutinación nos indica que el sistema de prueba se efectuó correctamente. ⁽²¹⁾

En caso de resultado negativo, la prueba será invalidada y se tendrá que realizar nuevamente.

3.6 Interpretación de resultados

La aglutinación de la prueba de antiglobulina directa constituye un resultado positivo e indica la presencia de anticuerpos IgG y/o complemento pegados al glóbulo rojo. ⁽¹⁷⁾

La no aglutinación de la prueba constituye un resultado negativo e indica la ausencia de anticuerpos IgG o componentes del complemento detectable en los glóbulos rojos, sujeto a pruebas de control satisfactorias.

La intensidad de la reacción nos señala, aunque de manera gruesa la cantidad de anticuerpos pegados al eritrocito. ^(8,13)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

SERIE II, tubos con glóbulos rojos problema (PROB); si la prueba de Coombs directo muestra aglutinación, se interpreta como positiva y se reporta indicando el título y la puntuación, como se indica a continuación:

Prueba de Coombs Directo: Positiva

Título: X:Y

Puntuación: Z puntos

Si no hubo aglutinación, la prueba de Coombs Directo es negativa y significa que no existe autosensibilización eritrocitaria y se reporta como:

Prueba de Coombs Directo: Negativa

Este resultado negativo se valida con la positividad del Control de la Antiglobulina Humana (CAGH), lo que asegura una reacción negativa verdadera.

Si los glóbulos rojos sensibilizados (G.R.S.) no aglutinan en el CAGH, el resultado de la prueba de Coombs se invalida.

SERIE III, tubos con glóbulos rojos sensibilizados (G.R.S.); debe presentar aglutinaciones de intensidad decreciente, considerándose positivo hasta la lectura de una cruz, cuando la aglutinación es granienta se considera el resultado negativo.

SERIE IV, tubos con glóbulos rojos no sensibilizados (G.R.N.S.) no deben presentar aglutinaciones, puntuación = 0. El método queda validado si resulta positiva la prueba de Consuno de la antiglobulina humana (CAGH).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.7 Informe de resultados

Realizada la prueba los resultados se registrarán en la libreta de trabajo.

Se reportarán estos resultados en la libreta de control de pacientes y en el formato de resultados de pacientes hospitalizados y de consulta externa.

Los resultados se entregarán al médico tratante del paciente hospitalizado y directamente al paciente de consulta externa, en un término de 5 días hábiles por el personal químico responsable.

3.7 Interferencias-Errores

- Uso de reactivos mal conservados.
- Material de vidrio usado mal lavado, contaminado con proteínas.
- No lavar las células o lavados insuficientes.
- No añadir el reactivo AGH.
- Contaminación o neutralización del reactivo AGH.
- Centrifugación incorrecta.
- Inadecuada realización de diluciones.
- Uso de pipetas Pasteur de diferente calibre.
- Técnica mal llevada a cabo.
- Examinación incorrecta de la aglutinación. ^(8, 14)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

4.0 Intensidad de la reacción Antígeno-Anticuerpo

La intensidad de las reacciones antígeno-anticuerpo, cuando estas se efectúan por métodos manuales, la medimos por medio de la aglutinación, misma que se debe estandarizar por el personal que trabaja en los Servicios de Transfusiones y Banco de Sangre, de acuerdo a la Tabla 9.

Tabla 9. Intensidad de la reacción Antígeno-Anticuerpo

Reactividad	Aglutinación	Puntuación
4+	Un solo botón celular	12
3+	Varios aglutinados grandes	10
2+	Varios aglutinados medianos	8
1+	Varios aglutinados grandes y pequeños	5
(+)	Varios aglutinados pequeños	3
g	Aglutinación muy débil	1
Neg	Ausencia de aglutinación	0

Fuente: Instituto Mexicano del Seguro Social (21)

El título y la puntuación son valores usados como una indicación de la concentración de anticuerpos y se establece con una serie de diluciones sucesivas, la última dilución en donde se observa la mínima aglutinación de las células es el título que se reporta y a cada intensidad de aglutinación se le asigna un valor los cuales son sumados obteniéndose la puntuación.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Ejemplo:

DILUCIONES DEL SUERO DE COOMBS									
	S/D	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256
REACTIVIDAD	4+	4+	3+	3+	2+	1+	g	Neg	Neg
PUNTOS	12	12	10	10	8	5	1	0	0

TITULO: 1:64

PUNTUACIÓN: 58 puntos

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

5.0 Material suplementario

Anexar el inserto vigente del suero de Coombs (AGH)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Área: Pruebas cruzadas

Título: Pruebas Cruzadas de Compatibilidad

Procedimiento No.: 005

En vigor el: Sustituye a:

Próxima revisión:

Elaborado por: Galeana Martínez Marcela

Fecha:

Revisado y aprobado por:

Fecha:

Autorizado por:

Fecha:

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

PRUEBAS CRUZADAS DE COMPATIBILIDAD

1.0 Objetivo

Contar con una técnica que nos permita demostrar la ausencia de anticuerpos específicos regulares e irregulares de importancia clínica en el suero del receptor contra los glóbulos rojos del donador (Prueba mayor) y anticuerpos en el suero del donador, contra los glóbulos rojos del receptor (Prueba menor).

2.0 Importancia clínica de la detorminación

Es un procedimiento de laboratorio que permite conocer si existe compatibilidad serológica entre la sangre de una persona donante y la de un receptor. Es la prueba más importante efectuada en un servicio de transfusión y tiene como finalidad prevenir la transfusión de sangre incompatible y asegurar al paciente los mayores beneficios de la transfusión. ^(8, 14, 17)

La prueba cruzada se ha realizado en tres partes:

- a. La *Prueba Cruzada Mayor* (PM); Que consiste en la mezcla del suero del paciente con los glóbulos rojos del donante y permite demostrar la ausencia de anticuerpos específicos regulares e irregulares de importancia clínica en el suero del receptor. ^(8, 13, 17)
- b. La *Prueba Cruzada Menor* (Pm); en donde el plasma del donante se mezcla con los glóbulos rojos del receptor y permite demostrar anticuerpos en el suero del donador contra los eritrocitos del receptor, particularmente cuando se pretende transfundir sangre total, proveniente de donador con antecedentes propios de inmunización (embarazos o transfusiones previas) ^(8, 13, 17)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- c. El *Autotestigo o Autocontrol* (AT); que contiene suero y eritrocitos del paciente y permite detectar una prueba de antiglobulina directa positiva, así como la presencia de rouleaux y otras anomalías séricas que pueden causar problemas en la prueba cruzada mayor. ^(13 14)

Una prueba cruzada es compatible, cuando no se observa ni aglutinación, ni hemólisis a 37 °C en ninguna de las tres pruebas anteriores (PM, Pm, AT) ⁽¹³⁾

Esta prueba es un requerimiento fundamental, porque es la mejor manera de detectar anticuerpos que pueden dañar las células rojas transfundidas y causar una reacción hemolítica transfusional. ⁽¹⁹⁾

La prueba cruzada de compatibilidad tiene como objetivos:

- Garantizar que los glóbulos rojos a transfundir son ABO compatibles con el receptor.
- Detectar anticuerpos en el suero del receptor que estén dirigidos contra antígenos presentes en los glóbulos rojos del donante. ⁽¹⁹⁾

Un error en la prueba de compatibilidad puede conducir a una reacción hemolítica cuyas consecuencia pudiera ser terminar con la vida del paciente o causarle lesiones orgánicas que pueden acortar se existencia.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Desventajas de la prueba cruzada de compatibilidad:

- 1) No previenen la inmunización del receptor
- 2) No garantizan la sobrevida normal de los glóbulos rojos transfundidos.
- 3) No detectan errores en la clasificación del factor Rh (D) en el donante o el receptor a menos que el suero contenga anticuerpos anti-D.
- 4) No detectan todos los errores en la clasificación del sistema ABO.
- 5) No detectan anticuerpos antileucocitarios, antiplaquetarios o contra proteínas del suero (IgA e IgM, etc.)
- 6) No previenen reacciones hemolíticas tardías, secundarias a respuestas anamnésicas a antígenos contra los cuales el paciente había sido previamente inmunizado, pero cuyos anticuerpos no eran demostrables en el momento en que se practicaron las pruebas.
- 7) No previene reacciones febriles o alérgicas causadas por la sangre transfundida.
- 8) No detectan errores administrativos o secretariales.
- 9) No detectan anticuerpos a menos que el procedimiento sea practicado correctamente y que el suero y las células hayan sido adecuadamente preparadas. ^(14, 17)

La identificación inequívoca de las muestras de sangre tanto del receptor potencial como del componente a transfundir, es un aspecto fundamental, dado que la mayor parte de las reacciones hemolíticas tienen su origen en errores de identificación de la muestra. ⁽²²⁾

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Selección de componentes apropiados al receptor

En la medida de lo posible los receptores deberán recibir componentes sanguíneos ABO idénticos, sin embargo en ciertas situaciones puede ser necesario hacer selecciones alternativas, como se muestra en la Tabla 10.

Tabla 10. Alternativas de transfusión en orden de preferencia

Grupo del receptor	Concentrado Eritrocitario			Plasma		
	1	2	3	1	2	3
O	O	Ninguno	Ninguno	O	AB	A o B
A	A	O	Ninguno	A	AB	Ninguno
B	B	O	Ninguno	B	AB	Ninguno
AB	AB	B o A	O	AB	Ninguno	Ninguno

Fuente: NOM 1993 (3). Agrupación Mexicana para el Estudio de la Hematología 2002 (1)

Los componentes Rh (D) positivos deberán rutinariamente ser enviados a receptores Rh (D) positivos. El uso de productos Rh (D) negativos para estos pacientes aunque permisible, en forma ideal deberá reservarse para pacientes o receptores Rh (D) negativos.

Ocasionalmente los productos Rh (D) negativos pueden no estar disponibles; en esta situación el médico del banco de sangre en conjunto con el médico tratante podrán optar por otras medidas alternativas, como posponer la transfusión o utilizar sangre Rh (D) positiva con un riesgo de 80% de inmunizar al paciente; en caso de que el retardo de la transfusión ponga en peligro la vida, dependiendo del tipo de receptor y del volumen de células transfundidas, puede ser considerada la administración de inmunoglobulina Rh a los pacientes Rh (D) negativos transfundidos con productos D positivos. ⁽⁸⁾

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.0 Método

La prueba cruzada puede ser dividida en tres fases:

FASE I: Centrifugación inmediata o prueba rápida; en la cual como se ha mencionado previamente se establece la compatibilidad al sistema ABO; sin embargo, otros anticuerpos pueden ser también detectados en esta fase.

FASE II: A 37°C; la prueba continua con una incubación a 37 °C utilizando alguno de los medios potenciadores de la reacción entre los cuales podemos mencionar: albúmina, solución de baja fuerza iónica (LISS), polietilenglicol (PEG) y enzimas que facilitan las reacciones antígeno-anticuerpo y que son escogidas por el personal de banco de sangre de acuerdo a la experiencia del personal, la necesidad, basándose en la clase de pacientes y la preferencia del laboratorio.

FASE III: De antiglobulina humana; consiste en agregar posteriormente a la incubación el reactivo de Coombs en forma de Anti-IgG + anticomplemento (policapcífico) o Anti-IgG (monoespecífico).

Potenciadores de la aglutinación: Son aquellas sustancias que se emplean para modificar el medio de prueba como una manera de promover la aglutinación de glóbulos rojos antígeno positivo por los anticuerpos IgG correspondientes.

Solución salina fisiológica: Tiene una concentración de ClNa de 0.9% y se emplea para suspender los glóbulos rojos.

Suele ser la más usada porque reaccionan bien todos los anticuerpos, son los más baratos y los más fáciles de controlar. ⁽²¹⁾

Los anticuerpos que aglutinan en salina son generalmente de la clase IgM y muchos de ellos reaccionan mejor a temperaturas menores de 22°C. Este tipo de anticuerpos no tiene importancia clínica, pero algunos de ellos pueden

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

reaccionar a temperatura ambiente y también a 37°C. Cuando un anticuerpo se comporta en esa forma, es considerado de importancia clínica (Ejemplo: Anti-Kell, Anti-Rh, etc.)⁽¹⁴⁾

Albumina Bovina: Es ampliamente usada en la metodología de banco de sangre como un medio para potenciar la reacción de un gran número de anticuerpos de la clase IgG. Causa una reducción del potencial Z permitiendo el acercamiento de los glóbulos rojos y su aglutinación por los anticuerpos IgG. Por esta razón se usa en la investigación, identificación y titulación de anticuerpos así como en la prueba cruzada. En este procedimiento la albúmina actúa en dos vías:

- a) Potenciando la aglutinación de los glóbulos rojos por algunos anticuerpos, tales como Rh.
- b) Aumentando la captación de anticuerpos por los glóbulos rojos, incrementando en esta forma la sensibilidad de la prueba de la antiglobulina humana. ^(8, 23, 24)

Liss Solución de baja fuerza iónica: Esta es compuesta por CINA 0.03M y glicina 0.3M y tiene las siguientes propiedades:

- a) Incrementa la captación de anticuerpos por los antígenos respectivos, especialmente en aquellos anticuerpos de menor avidez. Este fenómeno se evidencia por la mayor reactividad de la prueba de antiglobulina humana.
- b) Aumenta la velocidad de asociación antígeno anticuerpo.
- c) Emplean menor tiempo de incubación, sin pérdida de sensibilidad para la detección de anticuerpos por la técnica de antiglobulina humana, siendo posiblemente la única ventaja con relación a los medios de reacción convencionales. ^(14, 21, 23, 24)

Es importante recordar que no existe un reactivo perfecto para la potenciación de todos los anticuerpos de importancia clínica. Cada uno de ellos tiene sus

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

implicaciones, así como sus limitaciones. La selección del medio de potenciación depende de la experiencia del personal, la necesidad, basándose en la clase de pacientes, y la preferencia del laboratorio. ⁽²⁴⁾

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.1 Preparación del paciente

Requiere un ayuno mínimo de 4 horas.

3.2 Condiciones de manejo de la muestra

Tomar una muestra de sangre en un tubo sin anticoagulante, sin gel e identificarlo perfectamente con el nombre completo del paciente, No. de expediente o registro, así como No. de cama y fecha en que fue tomada la muestra.

Si las pruebas no se van a realizar de inmediato, se debe separar el suero del paquete globular mediante centrifugación. El paquete globular se guardará en refrigeración y el suero se congelará con el fin de prevenir que el complemento se inactive. ⁽¹⁷⁾

3.3 Material y aparatos

- Tubos de 10 x 75
- Pipetas Pasteur
- Aplicadores de madera
- Serófuga
- Baño María a 37°C con termómetro
- Gradilla
- Gasas
- Guantes

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.4 Reactivos

- Sueros comerciales Anti-A, Anti-AB y Anti-B.
- Eritrocitos conocidos A₁, A₂, B y O, suspendidos al 3-5% en SSF
- Suero comercial Anti-D
- Suero comercial Control Rh
- Albúmina bovina al 22%
- LISS
- Suero antiglobulina humana (Suero de Coombs)
- Solución Salina Fisiológica
- Suspensión del 3-5% de eritrocitos sensibilizados

3.5 Instrucciones

- Realizar el control de calidad de avidez y especificidad de los sueros hemoclasificadores Anti-A, Anti-AB, Anti-B y Anti-D, y la titulación del suero Antiglobulina Humana (AGH), tal y como se indica en el ANEXO A: *Control de calidad de reactivos.*

Muestra del paciente (receptor):

- Centrifugar la muestra del receptor por 5 minutos a 3,400 rpm, y separar el suero de los eritrocitos.
- Tomar una alícuota de los eritrocitos del paciente y lavarlos 3 veces con SSI durante 1 minuto a 3,400 rpm cada lavado.
- Resuspenderlos al 3-5% en SSF.
- Determinar el grupo sanguíneo del sistema ABO (Prueba directa e inversa)
- Determinar el grupo sanguíneo Rh (D) del paciente.
- Seleccionar al donador ABO y Rh compatible de acuerdo a la Tabla 10.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Muestra del donador:

- De acuerdo a la elección anterior, depositar de 2 a 3 gotas de CE del donador en un tubo y lavar 3 veces durante 1 minuto a 3,400 rpm cada lavado.
- Resuspender al 3-5% las células y rectificar el grupo sanguíneo de la unidad.
- Tomar una alícuota de plasma del donador obtenida de la unidad de concentrado plaquetario (CP) o plasma fresco congelado (PFC).

Nota: Se deben realizar pruebas cruzadas de compatibilidad a los concentrados eritrocitarios (CE), concentrados plaquetarios (CP) y plasmas frescos congelados (PFC) ya sean estos obtenidos de sangre total de donador o de aféresis. Si se van a transfundir CE puede realizarse sólo la prueba mayor (PM) y si se van a transfundir CP o PFC realizar solamente la prueba menor (Pm), incluyendo autotestigo (AT).

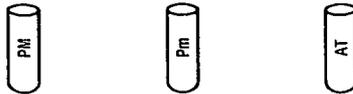
La prueba menor ha sido eliminada de algunos Bancos de Sangre, ya que rutinariamente a los donadores de sangre se les realiza la determinación serológica de los anticuerpos más comunes. La presencia de anticuerpos de baja incidencia en el plasma de los mismos, probablemente no cause una reacción transfusional al ser diluidos en el plasma del receptor. ⁽¹⁹⁾

Pruebas cruzadas:

Medio salino:

- Rotular 3 tubos como **PM**, **Pm** y **AT**, como se muestra en el Esquema 11.

Esquema 11. Pruebas cruzadas



- Colocar el tubo **PM** (prueba mayor) 2 gotas del suero del receptor más una gota de eritrocitos del donador suspendidos al 3-5% en SSF.
- Colocar en el tubo **Pm** (prueba menor) 2 gotas de plasma del donador más 1 gota de eritrocitos del receptor suspendidos al 3-5% en SSF.
- Colocar en el tubo **AT** (autotestigo) dos gotas del suero del receptor más una gota de eritrocitos del receptor suspendidos al 3-5% en SSF.
- Mezclar perfectamente.
- Centrifugar 15-30 segundos a 3,400 rpm.
- Resuspender suavemente y observar si hay aglutinación y/o hemólisis .
- Reportar S/R.
- Incubar los tubos durante 60 minutos a 37°C.
- Centrifugar 15-30 segundos a 3,400 rpm.
- Regresar los tubos durante 3 minutos a 37°C y de ahí leer las aglutinaciones y/o hemólisis.
- Reportar S/37°C.
- Los tubos que mostraron aglutinación débil (+ o menos) o negativa, se lavan 3 veces con SSF durante 1 minuto a 3,400 rpm cada lavado.

Pruebas cruzadas de compatibilidad

- Eliminar toda la salina en el último lavado y secar el borde de los tubos invertidos.
- Agregar dos gotas de la antiglobulina humana.
- Mezclar y centrifugar 15-30 segundos a 3,400 rpm.
- Resuspender suavemente y leer aglutinación y/o hemólisis.
- Reportar S/C.
- Si el resultado es negativo, realizar el CAGH, adicionando una gota de glóbulos rojos sensibilizados (G.R.S.) a cada tubo.
- Mezclar suavemente.
- Centrifugar 15-30 segundos a 3,400 rpm
- Resuspender muy suavemente y observar aglutinación, la lectura debe ser positiva.
- Reportar C/C.

Reportar todos los resultados obtenidos en la columna correspondiente de la Tabla 11.

Tabla 11. Reporto de la prueba cruzada en medio salino

TUBOS	FASES			
	S/R	S/37°C	S/C	C/C
PM				
Pm				
AT				

Donde:

PM: Prueba Mayor

Pm: Prueba Menor

AT: autotestigo

S/R: Fase Salina Rápida

S/37°C: Fase Salina a 37°C

S/C: Fase Salina Coombs

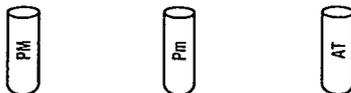
C/C: Fase de Control de Coombs

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Pruebas cruzadas:

- **Albúmina bovina al 22%**
- **Rotular 3 tubos como PM, Pm y AT, como se muestra en el Esquema 12.**

Esquema 12. Pruebas cruzadas



- Colocar el tubo **PM** (prueba mayor) 2 gotas del suero del receptor más una gota de eritrocitos del donador suspendidos al 3-5% en SSF y dos gotas de albúmina bovina al 22%.
- Colocar en el tubo **Pm** (prueba menor) 2 gotas de plasma del donador más 1 gota de eritrocitos del receptor suspendidos al 3-5% en SSF y dos gotas de albúmina bovina al 22%.
- Colocar en el tubo **AT** (autotestigo) dos gotas del suero del receptor más una gota de eritrocitos del receptor suspendidos al 3-5% en SSF y dos gotas de albúmina bovina al 22%.
- Mezclar perfectamente los tubos.
- Centrifugar durante 90 segundos a 3,400 rpm.
- Resuspender suavemente.
- Leer, observando si hay aglutinación y/o hemólisis.
- Reportar **A/R**
- Incubar los tubos a 37°C durante 30-60 minutos.
- Centrifugar durante 90 segundos a 3,400 rpm.

- Regresar los tubos a 37°C y de ahí leer los tubos uno por uno , observando aglutinación y/o hemólisis.
- Reportar A/37°C
- Los tubos cuya aglutinación fue negativa o positiva débil (+ o menos) se lavan 3 veces con SSF, durante 1 minuto a 3,400 rpm cada lavado.
- Eliminar toda la salina en el último lavado y secar el borde de los tubos invertidos.
- Agregar dos gotas de la antiglobulina humana y mezclar gentilmente.
- Centrifugar 15-30 segundos a 3,400 rpm.
- Leer, resuspendiendo suavemente.
- Reportar A/C
- Si el resultado es negativo, realizar el CAGH, adicionando una gota de glóbulos rojos sensibilizados (G.R.S.) a cada tubo.
- Mezclar suavemente.
- Centrifugar 15-30 segundos a 3,400 rpm
- Resuspender muy suavemente y observar aglutinación, la lectura debe ser positiva.
- Reportar C/C.

Reportar todos los resultados obtenidos en la columna correspondiente de la Tabla 12.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 12. reporte de la prueba cruzada en medio de albúmina

TUBOS	FASES			
	A/R	A/37°C	A/C	C/C
PM				
Pm				
AT				

Donde:

PM: Prueba Mayor

Pm: Prueba Menor

AT: Autotestigo

A/R: Fase de Albúmina Rápida

A/ 37°C: Fase de Albúmina a 37 °C

A/C: Fase de Albúmina-Coombs

C/C: Fase de Control de Coombs

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

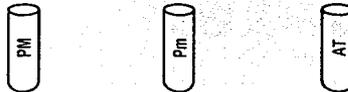
Pruebas cruzadas:

LISS, Medio de baja fuerza iónica:

Preparación de células al 5% en LISS:

- Rotular 3 tubos como PM, Pm y AT, como se muestra en el Esquema 13.

Esquema 13. Pruebas cruzadas



- Colocar el tubo **PM** (prueba mayor) una gota de eritrocitos del donador suspendidos al 3-5% en SSI más dos gotas de LISS.
- Colocar en el tubo **Pm** (prueba menor) una gota de eritrocitos del receptor suspendidos al 3-5% en SSF más dos gotas de LISS.
- Colocar en el tubo **AT** (autotestigo) una gota de eritrocitos del receptor suspendidos al 3-5% en SSF más dos gotas de LISS.
- Mezclar gentilmente y centrifugar 1 minuto a 3,400 rpm.
- Decantar el sobrenadante a sequedad.
- Poner nuevamente 2 gotas de LISS en cada tubo y resuspender por agitación.

Prueba cruzada:

- Adicionar a el tubo **PM** (prueba mayor), dos gotas del suero del receptor.
- Adicionar a el tubo **Pm** (prueba menor) dos gotas de plasma del donador.

- Adicionar a el tubo AT (autotestigo) dos gotas del suero del receptor.
- Mezclar gentilmente.
- Incubar 15 minutos a 37°C.
- Centrifugar a 3,400 rpm durante 30 segundos, regresar a 37°C.
- Resuspender suavemente y leer aglutinación y/o hemólisis.
- Reportar L/37°C.
- Lavar tres veces durante 1 minuto a 3,400 rpm cada lavado.
- Después del último lavado decantar perfectamente y secar el borde de los tubos.
- Adicionar dos gotas del antiglobulina humana y mezclar gentilmente.
- Centrifugar 30 segundos a 3,400 rpm.
- Resuspender suavemente y leer aglutinación y/o hemólisis.
- Reportar L/C.
- Si el resultado es negativo, realizar el CAGH, adicionando una gota de glóbulos rojos sensibilizados (G.R.S.) a cada tubo.
- Mezclar.
- Centrifugar 15-30 segundos a 3,400 rpm
- Resuspender muy suavemente y observar aglutinación, la lectura debe ser positiva.
- Reportar C/C.

Reportar todos los resultados obtenidos en la columna correspondiente de la Tabla 13.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 13. Reporte de la prueba cruzada en medio de baja fuerza iónica (LISS).

TUBOS	FASES		
	L/37°C	L/C	C/C
PM			
Pm			
AT			

Donde:

PM: Prueba Mayor

Pm: Prueba menor

AT: Autotestigo

L/ 37 °C: Fase de Liss a 37 °C

L/C: Fase de Liss –Coombs

C/C: Fase de Control de Coombs

3.6 Interpretación de resultados

Se considera que existe compatibilidad entre el receptor y el donador, cuando no se visualiza hemólisis o aglutinación en ninguno de los pasos de la prueba cruzada. (8)

La aglutinación indica un resultado positivo o incompatibilidad para la prueba cruzada.

Si se ha encontrado incompatibilidad, deben efectuarse nuevas pruebas cruzadas con uno o más donadores diferentes. Si se ha encontrado incompatibilidad con todas las sangres probadas y/o el autotestigo también resulta

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

positivo en cualquiera de las fases de las pruebas se deberá realizar un rastreo de anticuerpos irregulares fuera del sistema ABO y otras técnicas pertinentes para obtener unidades compatibles. ⁽¹³⁾

El *autotestigo* nos permite detectar una prueba de Coombs directo positiva. ⁽¹⁴⁾

El *autotestigo negativo* nos indica que el paciente no ha creado anticuerpos dirigidos contra sus propios antígenos eritrocitarios. ⁽¹⁴⁾

El *autotestigo positivo* se puede presentar por varias razones: si el paciente esta transfundido recientemente (menos de 3 meses) es muy probable que esa positividad se deba a los anticuerpos del paciente que están pegados a los eritrocitos de la sangre transfundida. Si fue transfundido en los días previos con plasma o plaquetas, la positividad se puede deber al paso de anticuerpos del donador que se pegaron a los eritrocitos del paciente. ⁽⁸⁾

Si el paciente nunca ha sido transfundido o tuvo transfusiones hace más de 4 meses, lo más probable es que estemos frente a un autoanticuerpo como puede suceder en las anemias hemolíticas autoinmunes o en pacientes inmunocomprometidos como en el SIDA. ⁽⁸⁾

En la prueba control de antiglobulina humana (CAGH) la presencia de aglutinación nos indica que el sistema de prueba se efectuó correctamente.

En caso aglutinación negativo en el CAGH, la prueba será invalidada y se tendrá que realizar nuevamente.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.7 Informe de resultados

Se reporta el resultado como compatible o incompatible en la solicitud de transfusión y en la libreta oficial en del área de pruebas cruzadas además se reportaran los resultados obtenidos en cada una de las fases de la prueba cruzada.

3.8 Reidentificación y control clínico del receptor

Es responsabilidad tanto del personal del Banco de Sangre que entrega el producto sanguíneo (Concentrado eritrocitario, Plasma fresco congelado o Concentrado plaquetario), como de quien recibe el producto y realiza la transfusión; verificar la identidad del paciente y de el producto a transfundir. ⁽¹⁷⁾

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.9 Interferencias-Errores

- Muestras anticuaguladas con EDTA
- Utilizar muestras hemolizadas.
- Contaminación de las muestras de sangre, reactivo y/o materiales adicionales.
- Temperatura o tiempo de incubación inapropiados.
- Deterioro de las inmunoglobulinas o anticuerpos por conservación inadecuada.
- Muestras de sangre viejas, las cuales pueden dar reacciones débiles comparadas cuando se utilizan células frescas.
- Suspensión de células muy diluidas o muy concentradas.
- La colocación errónea de un determinado reactivo en el tubo que no le corresponde.
- Una excesiva centrifugación puede dar como resultado dificultad en la resuspensión del botón de células en la prueba en tubo.
- Examinación de la aglutinación inapropiada (generalmente una agitación muy fuerte). La resuspensión de las reacciones en los procedimientos de tubo se deben realizar con una agitación suave. Si se agita muy fuerte puede causar la dispersión de la aglutinación.
- Desviación del procedimiento de prueba recomendado. (8, 14)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

4.0 Intensidad de la reacción Antígeno-Anticuerpo

La intensidad de las reacciones antígeno-anticuerpo, cuando estas se efectúan por métodos manuales, la medimos por medio de la aglutinación, misma que se debe estandarizar por el personal que trabaja en los Servicios de Transfusiones y Banco de Sangre, de acuerdo a la Tabla 14.

Tabla 14. Intensidad de la reacción Antígeno-Anticuerpo

Reactividad	Aglutinación	Puntuación
4+	Un solo botón celular	12
3+	Varios aglutinados grandes	10
2+	Varios aglutinados medianos	8
1+	Varios aglutinados grandes y pequeños	5
(+)	Varios aglutinados pequeños	3
G	Aglutinación muy débil	1
Neg	Ausencia de aglutinación	0

Fuente: Instituto Mexicano del Seguro Social (21)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

5. Material suplementario

Anexar el inserto vigente de los sueros comerciales utilizados.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ANEXO

Control de calidad

El control de calidad es un examen sistemático independiente para determinar si las actividades de calidad y sus resultados cumplen con los reglamentos planeados, y si éstos son implementados en forma efectiva; su desarrollo debe ser adecuado para cumplir los objetivos. ⁽⁸⁾

Control de calidad de reactivos

Los reactivos son los elementos más importantes para llevar a cabo las pruebas que se realizan en inmunohematología y éstas serán tan confiables como lo sean los reactivos. El control de calidad para los sistemas ABO, Rh (D) y para el suero de antiglobulina humana (AGH) debe realizarse todos los días en cada jornada que se labore. ⁽⁸⁾

Normas generales:

1. Recepción de reactivos:

- Verificar la apariencia física del empaque, en el sello de garantía y caducidad: ¿Presenta alteraciones durante el traslado y/o almacenamiento?
- Verificar características físicas del reactivo: el color, transparencia, presencia de hemólisis y nivel de volumen.
- El almacenamiento debe ser acorde con las indicaciones del fabricante.
- Leer y almacenar los instructivos hasta terminar el lote. ⁽⁸⁾

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2. Control de calidad de los diferentes sueros y células reactivo:

- **ESPECIFICIDAD:** Es la reactividad selectiva de un anticuerpo con su correspondiente antígeno, evitando el que llegara a reaccionar con otras, por lo que cada antisuero se hace reaccionar con las diferentes células y se observa si hubo aglutinación inespecífica. Puede realizarse en placa o en tubo empleando eritrocitos al 2-5% para determinar la especificidad del Sistema ABO y Rh (D). Esta prueba debe realizarse diariamente a los antisueros de rutina, antes de empezar a trabajar y a una muestra de cada nuevo lote que llegue. ⁽⁸⁾
- **AVIDEZ:** Es una medida de la capacidad de unión y la velocidad con el cual el anticuerpo se combina con su correspondiente antígeno (mide el tiempo máximo de reacción del reactivo a probar con sus correspondientes células). Se determina usando la técnica de placa, el tiempo de reacción se mide usando un cronómetro desde el momento en que se mezclan los reactivos hasta que la aglutinación sea visible. Para determinar la avidéz del sistema ABO y para la prueba de Coombs se emplea una preparación de eritrocitos al 10%. En tanto que para el sistema Rh (D) se emplean eritrocitos al 40%. Las pruebas de avidéz se realizarán de rutina a los antisueros en uso diariamente antes de empezar a trabajar y a una muestra de antisuero de cada nuevo lote. ⁽⁸⁾
- **TITULACIÓN:** Esta prueba mide la máxima dilución del antisuero a la cual es capaz de reaccionar con sus respectivas células. Se montan diluciones doble seriadas del antisuero a desafiar. El resultado se expresa como el recíproco de la máxima dilución que dé una aglutinación de 1+ ante un volumen constante de glóbulos rojos sensibilizados y glóbulos rojos no sensibilizados. ⁽⁸⁾

- **DETECCIÓN DE HEMÓLISIS Y TURBIDEZ:** Se realiza mediante observación macroscópica en una suspensión de trabajo diario de células reactivo de tipo comercial o caseras empleadas para la determinación de los grupos ABO/Rh (D), glóbulos rojos sensibilizados y glóbulos rojos no sensibilizados. Si esta es eliminada con un solo lavado los eritrocitos pueden emplearse en forma de suspensión salina para ese día; se debe realizar diariamente. ⁽⁸⁾
- **SOLUCIÓN SALINA FISIOLÓGICA:** La solución salina a utilizar en serología de grupos sanguíneos debe ser una solución de cloruro de sodio $0.15\text{ M} \pm 0.005\text{ M}$, con un pH de 6.0 a 8.0; se recomienda una osmolalidad en cada nuevo lote de 230 a 310 mOsm/ Kg.

Antes de su uso diario debe corroborarse la incapacidad para generar hemólisis, crenación o prueba de Coombs positiva a eritrocitos normales. Una buena técnica en medio salino implica la combinación de: 2 volúmenes de suero en estudio agregar un volumen de eritrocitos al 3-5% lavados previamente 3 veces, centrifugar los tubos 30 segundos, leer aglutinación, incubar 1 hora a 22°C. Centrifugar, regresar los tubos a 22°C. Leer aglutinaciones, pasarlos a 37°C una hora, centrifugar, regresarlos al baño, leer aglutinaciones, lavarlos 3 veces los tubos negativos o con aglutinaciones muy débiles (granientos), resuspender previamente el botón de eritrocitos formados por la centrifugación y llevarlos hasta Coombs. ^(8,19)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3. Registro de los resultados con los siguientes datos:

- Nombre de la institución.
- Especificaciones del reactivo como: No. de lote, marca, nombre del reactivo y fecha de caducidad.
- Nombre y firma de la persona que realizó el control de calidad diario.
- Resultados obtenidos
- Observaciones generales. ⁽⁸⁾

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ESPECIFICIDAD DE LOS SUEROS ANTI-A, ANTI-AB Y ANTI-B

La prueba consiste en enfrentar células conocidas A₁, A₂, B y O con los sueros comerciales Anti-A, Anti-AB y Anti-B.

Material y aparatos

- Tubos de 10 X 75
- Pipetas Pasteur
- Serófuga
- Gradillas
- Gasas
- Guantes

Reactivos

- Sueros comerciales Anti-A, Anti-AB y Anti-B
- Eritrocitos conocidos A₁, A₂, B y O
- Solución Salina Fisiológica

Instrucciones

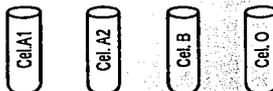
- Tomar una alícuota de eritrocitos A₁, A₂, B y O, lavarlos 3 veces con SSI durante 1 minuto a 3,400 rpm cada lavado y preparar una suspensión al 3-5% de cada muestra de glóbulos rojos.
- Rotular una serie de 4 tubos como **Col. A₁**, **Col. A₂**, **Col. B** y **Col. O**.
- De igual manera rotular otras 2 series más, como se muestra en el Esquema 14.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

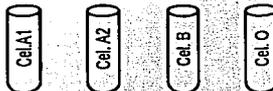
Esquema 14. Especificidad de los sueros Anti-A, Anti-AB, Anti-B

**SUERO
HEMOCLASIFICADOR**

ANTI-A



ANTI-AB



ANTI-B



- A cada tubo de las series colocarle 1 gota de la suspensión de células al 3-5%, A₁, A₂, B u O según corresponda.
- A la primer serie, adicionarle 1 gota del suero hemoclasificador Anti-A.
- A la segunda serie, adicionarle 1 gota del suero hemoclasificador Anti-AB.
- A la tercera serie, agregarle 1 gota del suero hemoclasificador Anti-B.
- Homogenizar la mezcla de los tubos con movimientos de agitación suave.
- Centrifugar de 15 a 30 segundos a 3,400 rpm.
- Leer uno por uno cada tubo, anotando los grados de aglutinación por cruces.
- Anotar los datos del reactivo y reportar los resultados en la hoja de control de calidad de reactivos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Resultados

Las especificaciones mínimas para los antisueros ABO son: Los antisueros sin diluir deben dar una reacción de aglutinación de 3+/4+ con los glóbulos rojos en suspensión salina al 3-5%. (3, 19)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ESPECIFICIDAD DEL SUERO ANTI-D Y CONTROL Rh.

La prueba consiste en enfrentar células conocidas R_{1r} o R_{2r} (glóbulos rojos Rh positivo) y células rr (Rh negativo) con los sueros comerciales Anti-D y Control Rh.

Material y aparatos

- Tubos de 10 x 75
- Pipetas Pasteur
- Aplicadores de madera
- Serófuga
- Gradillas
- Gasas
- Guantes

Reactivos

- Suero comercial Anti-D
- Suero comercial Control Rh
- Células R_{1r} o R_{2r} (glóbulos rojos Rh positivo)
- Células rr (glóbulos rojos Rh negativo)
- Albúmina bovina al 22%
- Solución Salina Fisiológica

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

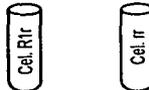
Instrucciones

- Tomar una alícuota de eritrocitos R₁r (glóbulos rojos Rh positivo), lavarlos 3 veces durante 1 minuto a 3,400 rpm cada lavado y preparar una suspensión al 3-5% en SSF.
- Tomar una alícuota de eritrocitos rr (glóbulos rojos Rh negativo), lavarlos 3 veces durante 1 minuto a 3,400 rpm cada lavado y preparar una suspensión al 3-5% en SSF.
- Rotular una serie de dos tubos; un tubo como R₁r y el otro como rr.
- Formar otra serie y rotularla de la misma manera, como se muestra en el Esquema 15.
- A cada serie colocarle una gota de células rojas suspendidas R₁r o rr, según corresponda a cada tubo.

Esquema 15. Especificidad del suero Anti-D y Control Rh.

REACTIVO

Anti-D



Control Rh



- A la primera serie de tubos, adicionarle una gota del suero Anti-D.
- A la segunda serie de tubos, adicionarle una gota del suero Control Rh.
- Homogenizar la mezcla con movimientos de agitación suave.
- Centrifugar a 3,400 rpm durante 90 segundos o según las especificaciones del fabricante.

- Resuspender suavemente el botón de células del fondo del tubo y leer, anotando grados de aglutinación por cruces en cada tubo.
- Anotar los datos del reactivo y reportar los resultados en la hoja de control de calidad de reactivos.

Resultados

Las especificaciones mínimas para el antisuero Anti Rh no diluido, debe dar una reacción de aglutinación de 3+/4+ en la prueba diseñada para su uso.

Si este fuera menor es un suero que esta fuera de control por lo tanto no debe ser usado. (3, 19, 21)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

AVIDEZ DE LOS SUEROS HEMOCLASIFICADORES ANTI-A, ANTI-AB, ANTI-B Y ANTI-D.

La prueba consiste en enfrentar los sueros comerciales Anti-A, Anti-AB, Anti-B y Anti-D con sus correspondientes células Cel. A₁, Cel. A₂, Cel. B, Cel. R_{1r} y Cel. R_{2r} y medir el tiempo máximo de reacción.

Material y aparatos

- Placas de porcelana o de vidrio blanco
- Pipetas Pasteur
- Palillos de madera
- Tubos de 10 x 75
- Cronómetro
- Gradillas
- Gasas
- Guantes

Reactivos

- Sueros comerciales Anti-A, Anti-AB, Anti-B y Anti-D
- Células conocidas Ce. A₁, Cel. A₂, Cel. B, Cel. R_{1r} y Cel. R_{2r}.
- Solución salina fisiológica.

Instrucciones

- Preparar diluciones al 10% de Cel. A₁, Cel. A₂ y Cel. B.
- Preparar diluciones al 40% de Cel. R_{1r} y Cel. R_{2r}.
- Rotular la placa de vidrio como se muestra en el Esquema 16.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Esquema 16. Avidoz de los sueros homoclasificadores Anti-A, Anti-AB, Anti-B y AntiD.

SUERO		CELULAS
Anti-A	<input type="radio"/> <input type="radio"/>	Cal. A1
Anti-A	<input type="radio"/> <input type="radio"/>	Cal. A2
Anti-B	<input type="radio"/> <input type="radio"/>	Cal. B
Anti-AB	<input type="radio"/> <input type="radio"/>	Cal. A1
Anti-AB	<input type="radio"/> <input type="radio"/>	Cal. A2
Anti-AB	<input type="radio"/> <input type="radio"/>	Cal. B
Anti-D	<input type="radio"/> <input type="radio"/>	Cal. R1r
Anti-D	<input type="radio"/> <input type="radio"/>	Cal. R2r

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Avidéz del suero Anti-A

- Colocar una gota de suero Anti-A en el lado derecho del rótulo Anti-A y una gota de células A₁ en el lado izquierdo del rótulo Cel. A₁
- Mezclar las dos gotas con un palillo o con el fondo de un tubo, haciendo un círculo.
- Medir el tiempo con un cronómetro desde el momento en que se mezcla los reactivos hasta que la aglutinación sea visible.
- Reportar los resultados en segundos en la hoja de control de calidad de reactivos.

- Hacer lo mismo para la determinación de la avidéz de cada uno de los demás sueros hemoclasificadores.

Resultados

Las especificaciones para los sueros se muestran en la hoja de control de calidad de reactivos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TITULACIÓN DEL SUERO ANTIGLOBULINA HUMANA (AGH)

La prueba consiste en enfrentar diluciones de antiglobulina humana (AGH) con células sensibilizadas (glóbulos rojos sensibilizados con IgG anti-D) y células no sensibilizadas, observando la máxima dilución del antisuero a la cual es capaz de reaccionar.

Material y aparatos

- Tubos de 10 x 75
- Pipetas Pasteur
- Aplicadores de madera
- Serófuga
- Gradilla
- Gasas
- Guantes

Reactivos

- Suero antiglobulina humana poliespecífico (Suero de Coombs)
- Solución Salina Fisiológica.
- Glóbulos rojos sensibilizados (G.R.S.)
- glóbulos rojos no sensibilizados (G.R.N.S.)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Instrucciones

Preparación de los glóbulos rojos

- Marcar dos tubos; uno como G.R.S y otro como G.R.N.S. como se muestra en el Esquema 17.

Esquema 17. Preparación de glóbulos rojos



- Colocar en cada tubo una alícuota de glóbulos rojos según corresponda.
- Lavar las células tres veces con SSF a 3,400 rpm, durante 1 minuto cada lavado y resuspender las células del 2-5%.

Preparación del suero de Coombs (AGH)

- Preparar un esquema de trabajo, marcando 3 series de tubos para tener diluciones progresivas del suero de Coombs (AGH), que irán desde AGH sin diluir hasta la dilución 1:256, como se muestra en el Esquema 18, de diluciones del suero de Coombs.

SERIE I: Para preparar diluciones progresivas del suero de Coombs

- A partir del tubo 1:2 hasta el tubo 1:256 colocar 15 gotas de SSF.
- Al tubo 1:2 agregar 15 gotas del suero de Coombs y homogenizar.
- Pasar del tubo 1:2 al tubo 1:4 15 gotas de la dilución y homogenizar.
- Pasar del tubo 1:4 al tubo 1:8 15 gotas de la dilución y homogenizar.
- Pasar del tubo 1:8 al tubo 1:16 15 gotas de la dilución y homogenizar.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- Pasar del tubo 1:16 al tubo 1:32 15 gotas de la dilución y homogenizar.
- Pasar del tubo 1:32 al tubo 1:64 15 gotas de la dilución y homogenizar.
- Seguir la misma secuencia hasta tubo 1:256, donde se deben descartar 15 gotas.

Esquema 18. Diluciones del suero de Coombs



- Colocar en los tubos de las SERIE II y SERIE III marcados como S/D, dos gotas del suero de Coombs sin diluir directamente del frasco.
- Del tubo marcado como 1:2 de la SERIE I, tomar una muestra de la dilución y colocar dos gotas a los tubos de la SERIE II y SERIE III marcados como 1:2.

- Del tubo marcado como 1:4 de la SERIE I, tomar una muestra de la dilución y colocar dos gotas a los tubos de la SERIE II y SERIE III marcados como 1:4.
- Del tubo marcado como 1:8 de la SERIE I, tomar una muestra de la dilución y colocar dos gotas a los tubos de la SERIE II y SERIE III marcados como 1:8.
- Del tubo marcado como 1:16 de la SERIE I, tomar una muestra de la dilución y colocar dos gotas a los tubos de la SERIE II y SERIE III marcados como 1:16.
- Del tubo marcado como 1:32 de la SERIE I, tomar una muestra de la dilución y colocar dos gotas a los tubos de la SERIE II y SERIE III marcados como 1:32.
- Del tubo marcado como 1:64 de la SERIE I, tomar una muestra de la dilución y colocar dos gotas a los tubos de la SERIE II y SERIE III marcados como 1:64.
- Del tubo marcado como 1:128 de la SERIE I, tomar una muestra de la dilución y colocar dos gotas a los tubos de la SERIE II y SERIE III marcados como 1:128.
- Del tubo marcado como 1.256 de la SERIE I, tomar una muestra de la dilución y colocar dos gotas a los tubos de la SERIE II y SERIE III marcados como 1.256.
- Adicionar a cada tubo de la SERIE II, una gota de la suspensión al 2-5% de los G R S y mezclar suavemente.
- Adicionar a cada tubo de la SERIE III, una gota de la suspensión al 2-5% de los G.R N.S y mezclar suavemente.
- Centrifugar todas las dos series a 3.400 rpm por 15-30 segundos.
- Leer cada tubo y anotar el grado de la aglutinación por cruces
- Anotar los datos del reactivo y reportar los resultados en la hoja de control de calidad de reactivos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Consumo del suero de Coombs (CAGH)

Es la validación de la prueba de Coombs, que se basa en que el suero de Coombs que no reaccionó, se utilice o consuma cuando se le agreguen glóbulos rojos sensibilizados y se realiza de la siguiente manera: ^(15, 21)

- Los tubos que en la prueba de Coombs hayan dado resultado negativo, se le agrega una gota de la suspensión de glóbulos rojos al 3-5% sensibilizados (G.R.S.)
- Centrifugar 15-30 segundos a 3,400 rpm.
- Leer los resultados.

La presencia de aglutinación nos indica que el sistema de prueba se efectuó correctamente.

Resultados

Las especificaciones mínimas para el suero de la Antiglobulina Humana (AGH) es que debe tener una aglutinación con las células sensibilizadas mayor o igual a 28 puntos y un título por lo menos de 1:32.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

HOJA DE CONTROL DE CALIDAD DIARIO DE REACTIVOS

Fecha: _____
Realizó: _____

Turno: _____
Panel: _____

ESPECIFICIDAD	A ₁	A ₂	B	O	SUERO	LOTE	CADUCIDAD	MARCA
					Anti-A			
					Anti-AB			
					Anti-B			

G. R. R _{1f}	G. R. r _f	SUERO	LOTE	CADUCIDAD	MARCA
		Anti-D			
		Control-Rh			

AVIDEZ	SUERO	CELULAS	TIEMPO AGLUTINACIÓN	TIEMPO REFERENCIA
	Anti-A	A ₁		15 seg
		A ₂		30 seg
	Anti-B	B		15 seg
		A ₁		15 seg
	Anti-AB	A ₂		30 seg
		B		15 seg
	Anti-D	R _{1f}		30 seg
		R _{2f}		30 seg

TITULACIÓN	DILUCIONES DEL SUERO DE COOMBS								SUERO DE COOMBS		
	SD	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	G.R.S.	LOTE
										G.R.N.S.	CADUCIDAD
										CONSUMO	MARCA

Observaciones:

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

COMENTARIOS FINALES Y PERSPECTIVAS

Estoy convencida que este manual va a ser leído y usado, porque responde a las necesidades actuales del área de pruebas cruzadas, del Banco de Sangre del C. M. N. " 20 de Nov. " I. S. S. S. T. E., y deseo que sea de la máxima utilidad para el personal químico y laboratorista que desarrolla su actividad diaria en el campo de la Medicina Transfusional, para beneficio directo de los pacientes.

Espero que este manual no se archive en una biblioteca, o en una oficina, sino que sea de esos que se encuentran en las mesas de trabajo de servicios de transfusión u otras áreas dentro de la medicina transfusional.

Con este manual se pretende dar inicio a la realización de una serie de manuales de diversas áreas involucradas en un servicio de Medicina Transfusional, dentro de las que podemos mencionar: área de toma de muestra, área de flebotomía, área de serología infecciosa, área de fraccionamiento, área de inmunohematología especial. Esta no es una tarea fácil; se necesita tener disponibilidad, encontrar un tiempo y poseer el sentido de misión y dedicación para lograrlo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

A/37°C: Fase Albúmina a 37 °C

A/C: Fase Albúmina Coombs

A/R: Fase Albúmina Rápida

AABB: Asociación Americana de Bancos de Sangre

AGH: Antiglobulina Humana

AGH: Suero de Antiglobulina Humana

AGH: Suero de Coombs

AT: Auto control

AT: Auto testigo

Auto: Auto control

Auto: Auto testigo

C/C: Fase de Control de Coombs

CAGH: Consumo de Antiglobulina Humana

CAGH: Control de la Antiglobulina Humana

Col. A₁: Células rojas o eritrocitos A₁

Col. A₂: Células rojas o eritrocitos A₂

Col. B: Células rojas o eritrocitos B

Col. O: Células rojas o eritrocitos O

Col. R_{1r}: Células o Eritrocitos Rh(D) Positivo

Col. R_{2r}: Células o Eritrocitos Rh(D) Positivo

Col. rr: Células o Eritrocitos Rh(D) Negativo

D^o: Antígeno D de expresión débil

EHRN: Enfermedad Hemolítica del Recién nacido

G. R. N. S.: Glóbulos Rojos No Sensibilizados

G. R. S.: Glóbulos Rojos Sensibilizados

IgA: Inmunoglobulina clase A

IgG: Inmunoglobulina clase G

IgM: Inmunoglobulina clase M

L/37°C: Fase de Liss a 37 °C

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

L/C: Fase de Liss-Coombs

PM: Prueba Mayor

Pm: Prueba Menor

PROB: Problema

S/37°C: Fase Salina a 37°C

S/C: Fase Salina-Coombs

S/D: Sin diluir

S/R: Fase Salina Rápida

SABO: Sistema ABO

SSF: Solución Salina Fisiológica

SSI: Solución Salina Isotónica

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Referencias bibliográficas

1. Recomendaciones para la terapia transfusional de sangre y sus componentes. Consenso de expertos en medicina transfusional. Agrupación Mexicana para el Estudio de la Hematología.
2. Lichtiger, BT. Colección de sangre y preparación de componentes: Control y garantía de calidad, procedente de el 2º. Simposium en la Florida. 1995 junio 29-julio 1.
3. Norma Oficial Mexicana NOM-003-SSA2-1993. Para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos. Diario Oficial de la Federación. 1994 Julio 18.
4. Martínez M, Ambríz F, Quintana G. Tópicos selectos de Medicina Transfusional, Ed. Prado, México, D. F., 2002. p.77 a 84, 95 a 99, 173 a 178, 309 a 312.
5. Estándares de Trabajo para Bancos de Sangre. Programa de Medicamentos Esenciales y Tecnología (HSP), División de Desarrollo de Sistemas y Servicios de Salud, Organización Panamericana de la Salud. Organización Mundial de la Salud, 2ª. Versión. Noviembre de 1999. p. 13, 14, 16, 57, 61.
6. Castillo SM, Fonseca YM. Mejoría Continua de la Calidad, Ed. Medica Panamericana, México, D. F., 1995. p. 9, 10.
7. Blanco L. Sistemas de Calidad en Banco de Sangre, Ed. Doyma, Madrid, España. 1996. p. 11 a 13, 45 a 49, 118 a 127.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

8. Radillo GA. Medicina transfusional, Ed. Prado, México, D. F., 1999. p.45 a 47, 73, 60, 62, 80 a 81, 88 a 89, 98 a 128, 261 a 274, 305 a 338, 644.
9. Matt S. Implementación de la ISO 9000 a 2000. Ed. Panorama.2001. p. 21 a 27, 183 a 185, 246 a 248.
10. Álvarez TM. Manual para elaborar manuales de políticas y procedimientos, Ed. Panorama editorial, México, D. F. 1996. p.23 a 26, 35 a 38, 49 a 58.
11. Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. Blood Transfusion in Clinical Medicine, 10a ed. Blackwell Science LTD, Oxford; 1997. p.115 a 132, 151 a 185.
12. Grupos sanguíneos ABO, H y Lewis y antígenos relacionados estructuralmente. En Manual Técnico. 12ª Argentina. AABB, Asociación Argentina de hemoterapia e inmunología; 1996. p.227 a 250.
16. Quintanar GE, Rodríguez MH, García NE, García CA. Prontuario de técnicas inmunohematológicas. Banco Central de Sangre del Centro Médico Nacional SXXI. p.4 a 12, 24 a 31, 55 a 60.
14. Linares JC. Inmunohematología y transfusión, principios y procedimientos. Ed. Vidal srl. Caracas, Venezuela. 1986. p.33 a 50, 79 a 88, 91 a 124, 151 a 163.
15. Quintanar GE. Uso de Panel de eritrocitos de fenotipo conocido, experiencia nacional, procedente de el XXXV Aniversario del Centro Médico Nacional SXXI, IMSS; 1997 junio 12-14; México, D. F.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

16. Kelton JG, Heddle NM, Blajchmaan MA. Transfusión Sanguínea, Bases teóricas y aplicación clínica. Ediciones Doyma. Barcelona España; 1996. p.39 a 34, 49 a 51, 64 a 85.
17. Palomares MBR, Flores AJ. Curso teórico práctico de Inmunología y Banco de Sangre. IMSS, Delegación 2 Noreste, D. F. Hospital Gral. Regional No. 25. Banco de Sangre. p.3 a 4, 39 a 45, 48 a 51, 65 a 67, 76 a 81.
18. Carmen Haesche, MT (ASCP). Investigación serológica de discrepancias ABO, procedente de el 2º. Simposio en la Florida. 1995 Junio 29.
19. Martín VC, Montoro AJ. Manual de medicina transfusional, Ed. Mosby/Doyma libros. Barcelona, España. 1994. p. 77 a 81, 183 a 224.
20. The Rh System. In Technical Manual 12a. American Association of Blood Banks. Bethesda. 1996. p.255 a 275.
21. Domínguez GM. Empleo de eritrocitos de fenotipo conocido en el Sistema de Banco de Sangre del Instituto Mexicano del Seguro Social.
22. Compatibility Testing and Selection of Components Standars for Blood Banks and transfusion Services. 17a. ed. AABB; 1996. p. 31 a 35.
23. Carmen Haesche, MT (ASCP) SBB. Evaluación de medios de incubación y soluciones potenciadoras, procedente de el 2º Simposio en la Florida; 1995 junio 29.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

24. Gloria Schlanger, BS MT (ASCP). Uso de potenciadores en Banco de Sangre, procedente de el 2o. Congreso Internacional de medicina transfusional; 1999 junio 15-19.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN