



Universidad de Concepción del Uruguay.

Licenciatura en Hemoterapia e Inmunohematología.

Centro Regional Rosario.

**FRECUENCIA DEL FENOTIPO RH EN DONANTES DE SANGRE
DEL SERVICIO DE HEMOTERAPIA DEL HOSPITAL JOSÉ
MARÍA GOMENDIO DE LA CIUDAD DE RAMALLO, BUENOS
AIRES.**

- **Autora:** Francesconi , Rosalía Teresa
- **Tutora temática:** Dra. Mariel Casamassima

Rosario

Año 2019

AGRADECIMIENTOS.

Agradezco a todos los profesionales que colaboraron con este proyecto que son muchos gracias a Dios.

A mi tía Angelita que me alojó durante todo el cursado y me sentí muy contenida.

A mi hermosa familia, mi marido, Orlando, mis hijos: Jimena, Alejo y Luca.

Gracias infinitas.

INDICE

1. RESUMEN	7
2. INTRODUCCION	8
3 ANTECEDENTES DE LA LITERATURA	8
4 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	10
5 CONTEXTUALIZACIÓN.....	11
6. JUSTIFICACIÓN.	12
7. OBJETIVOS.....	13
7.1. OBJETIVO GENERAL.....	13
7.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
8. HIPÓTESIS.....	13
9. MARCO TEORICO.	14
9.1 ANTIGENOS	14
9.1.1 TERMINOLOGÍA.....	16
9.1.2 GENES Y PROTEÍNAS RH.	19
9.1.3 ANTÍGENOS.	21
9.1.4 FENOTIPO RH.....	21
9.1.5 EL ANTÍGENO D.	22
9.1.6 D POSITIVO (RH POSITIVO).....	23
9.1.7 D DÉBIL (ANTIGUAMENTE DENOMINADO DU).....	23
9.1.8 D DÉBIL SECUNDARIO A LA PRESENCIA DE C.	24
9.1.9 D PARCIAL.....	24
9.1.10 D ELEVADO.	24
9.1.11 EPITOPES D Y D “LIKE” EN RHCE.....	25
9.1.12. D NEGATIVO (RH NEGATIVO).....	25
9.1.13 TIPIFICACIÓN DE D.	25
9.1.14 REACTIVOS.	25
9.1.15 DONANTES.	26
9.1.16. PACIENTES.....	27
9.1.17 DISCREPANCIAS DURANTE LA TIPIFICACIÓN DEL ANTÍGENO D.	27
9.1.18 GENOTIPIFICACIÓN DEL RH.....	27
9.1.19 TIPIFICACIÓN DE PACIENTES POLITRANSFUNDIDOS.....	27
9.1.20 PRUEBA DE CIGOSIDAD DEL RHD.....	27
9.1.21. TIPIFICACIÓN EL RHD FETAL.....	28

9.1.22. CONFIRMACIÓN DEL ESTATUS	28
9.1.23. ANTICUERPOS RH.	28
9.1.24. ANTICUERPOS RH CONCOMITANTES.	29
10. DISEÑO METODOLÒGICO	30
10.1 TIPO DE INVESTIGACIÒN Y DISEÑO	30
10.2 POBLACIÒN.....	30
10.3 VARIABLES DE ESTUDIO	30
10.4 PROCEDIMIENTOS:.....	31
10.5. MUESTRA.....	32
10.6 CRITERIOS DE INCLUSION.....	32
10.7 CRITERIOS DE EXCLUSION	32
10.8 TECNICA DE RECOLECCIÒN DE DATOS	33
10.9 INSTRUMENTO DE RECOLECCIÒN DE DATOS.....	33
10.11 OPERACIONALIZACIÒN.....	33
11. REFERENTE EMPIRICO.....	34
12. DISCUSION.....	35
13. RESULTADOS.....	¡Error! Marcador no definido.
14. CONCLUSION	41
15. GLOSARIO.	45
16. ANEXOS.....	49
16.1 NOTA DE CONSTANCIA DE NO REFERIR CONFLICTOS ÈTICOS.	49
16.2 LIBRO DE DONANTE.....	50
17. INTERVENCIONES.....	63
18-BIBLIOGRAFIA.....	64

INDICE DE IMAGENES

IMAGEN N° 1: Genes y proteínas Rh.....	19
IMAGEN N° 2: Esquema de la homología entre D parcial y proteínas D parcial..	22
IMAGEN 3: Esquema de los genes RHD y RHCE.	24
IMAGEN N°4: Reactivos CE/ce.....	53
IMAGEN N°5: Reactivos ABO y RH.	58
IMAGEN N° 6: Reactivos Liss - Coombs.	60

INDICE DE TABLAS

TABLA I: Terminología numérica para los antígenos Rh.	15
TABLA III: Determinación de los genotipos Rh más probables y fenotipos de acuerdo con las pruebas efectuadas con los cinco reactivos principales de tipificación.....	20
TABLA II: Prevalencia de los Haplotipos Rh principales.....	20
TABLA IV: Donantes clasificados según el sexo.	¡Error!
Marcador no definido.	
TABLA V: Donantes clasificados según el grupo etario.....	¡Error!
Marcador no definido.	
TABLA VI: Donantes clasificados según el factor Rh.....	¡Error!
Marcador no definido.	
TABLA VII: Donantes clasificados según su Fenotipo Rh	¡Error!
Marcador no definido.	

INDICE DE GRAFICOS.

GRAFICO N° 1: Donantes clasificados según el sexo. **¡Error! Marcador no definido.**

GRAFICO N°2: Donantes clasificados según el grupo etario. .. **¡Error! Marcador no definido.**

GRAFICO N° 3: Donantes clasificados según el factor Rh. .. **¡Error! Marcador no definido.**

GRAFICO N°4: Donantes clasificados según su Fenotipo Rh.... **¡Error! Marcador no definido.**

GRAFICO N° 5: Donantes clasificados según el grupo sanguíneo. **¡Error! Marcador no definido.**

GRAFICO N° 6: Inserto reactivo CDE/ce. 52

GRAFICO N°7: Inserto reactivo: Anti-D Blend..... 55

GRAFICO N° 8: Inserto reactivo: Anti-A; Anti-B; Anti: A, B. 56

GRAFICO N° 9: Inserto reactivo: Liss..... 57

GRAFICO N°10:Inserto reactivo Antiglobulina Humana Poliespecifico (Anti-IgG-C3 61

1. RESUMEN

La sangre obtenida por donación es usada para transfusiones a pacientes enfermos que así lo requieran. La terapia transfusional tiene por objetivo mejorar la salud del paciente evitando posibles reacciones adversas postransfusionales.

Actualmente se usan unidades de glóbulos compatibles con el grupo sanguíneo ABO y antígeno D del sistema Rh, pero existiendo esta compatibilidad igual se producen reacciones adversas postransfusionales hemolíticas causadas por otros sistemas sanguíneos como Kell, Duffy y Rh C, E, c y e; son proteínas altamente inmunogénico capaces de provocar una respuesta inmunológica en aquellos individuos que los poseen.

El propósito de este estudio es determinar la frecuencia fenotípica de los antígenos mayores del sistema Rh en donantes de sangre.

Se incluyó un total de 225 donantes de sangre, a quienes se le realizó la frecuencia fenotípica de los antígenos del sistema Rh.

Las pruebas fueron hechas utilizando la técnica de hemaglutinación en tubo y placa respectivamente.

La estrategia de fenotipar otros antígenos otros sistemas diferentes a los del sistema ABO y Rh D en unidades de glóbulos rojos donados es un paso más para mejorar la seguridad transfusional de sangre.

Palabras clave

Frecuencia Fenotípica Rh, donantes de sangre, transfusiones, aloanticuerpos.

2. INTRODUCCION

La inmunohematología estudia las propiedades antigénicas de los elementos sanguíneos y otras células del organismo, y de los diferentes anticuerpos que pueden existir en el plasma humano (1) Es una ciencia fundamental para los estudios de compatibilidad entre donante y receptor en las transfusiones sanguíneas. Uno de los hemocomponentes más transfundidos son los glóbulos rojos (GR), los cuales poseen estructuras de membrana que originan diversos antígenos eritrocitarios pertenecientes a alguno de los 33 sistemas sanguíneos, series o colecciones descritos hasta la fecha. (2,3)

Los sistemas sanguíneos más relevantes en terapia transfusional son: el sistema ABO y luego el sistema Rh. Es por ello que los exámenes inmunohematológicos que se realizan a todos los donantes y receptores de sangre son: la clasificación de los sistemas ABO y Rh(D) y la detección de anticuerpos irregulares (4,5).

3. ANTECEDENTES DE LA LITERATURA

- ❖ Dominguez, A; Ridolfi, A en 2005 se realizaron un estudio tipo retrospectivo ,descriptivo, observacional,transversal con la totalidad de donantes de sangre que asisten al hospital 01 de junio con un total de muestras 3214 y se encontró que el fenotipo mas frecuente en la población de sangre estudiada fueron: DCcEe (23,39%),dce(23,11%),y DCce(21,86%).
- ❖ Casimiro Reyes, Romelia, Suje y en 2018 realizaron un estudio de frecuencia de fenotipo Rhesus(C,c,E,e) y del sistema Kell en donantes del grupo o positivo del banco de sangre del Hospital Victor Lazarte Echegaray el periodo enero-marzo 2018.con un resultado de e (88.4%),de 214 donantes; C (80.6%) de 195 donantes; E (61.2%) 148 donantes; c (71.5%) 9 173 donantes; y y K1 se presento en (1.2%) para mujeres 1 donante y (0.6%) para varones 1 donante.
- ❖ Prof.MsC.Marcela Vasquez Rojas, Lic. TM. Daniela Castillo Espinosa,Lic.TM. Yanara Pavez Espinoza,Prof .MSP. Monica Maldonado rojas,Lic.TM Aaron Mena Leiva ,Frecuencia fenotipo Rh y del sistema Kell en donantes de sangre.Rev Cubana Hematolo Inmunol Hemoter vol.31n°2 Ciudad de la Habana abril-junio en 2015,los estudios inmunohematológicos que se realizan a los donantes de sangre se orientan a proporcionar al receptor una terapia transfusional compatible con el sistema sanguíneo ABO y antígeno D del sistema Rh. Sin embargo, como una forma de incrementar la seguridad transfusional, surge el interés de ampliar la gama de antígenos a determinar y por ende, a compatibilizar previo a una transfusión sanguínea el estudio descriptivo transversal que incluyó 200 donantes voluntarios de sangre del Centro Productivo Regional de Sangre del Maule (CPRSM) seleccionados al azar. Se realizó fenotipificación de los cinco antígenos mayores del sistema Rh. y el antígeno K1 y K2 del sistema Kell. Se utilizó la técnica de hemaglutinación en tubo, con sueros monoespecíficos y DG Gel® Coombs. Se calculó la frecuencia fenotípica de los antígenos D, C, c, E y e del sistema Rh., y K1 y K2 del sistema Kell, en porcentajes. A partir de la frecuencia de los fenotipos Rh, se determinó la frecuencia del genotipo mas probable de dicho sistema.

Los resultados fueron, sistema Rh: 96 % de las muestras estudiadas presentaba el antígeno D, 97,5 % el antígeno “e”; 35,5 % el antígeno E; 79 % el antígeno C y

65,5 % el antígeno “c”. El genotipo más frecuente fue CDe/CDe. Sistema Kell: se encontró una frecuencia del 4% para el antígeno K1, mientras que el antígeno K2 presenta una frecuencia del 99,5 %. Al nivel de frecuencia genotípica se detectó que el 96 % de la población tiene un genotipo homocigoto para K2 (kk).

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

¿Se relaciona el grado de sensibilización en pacientes politransfundidos con el conocimiento de la frecuencia de fenotipo Rh en donantes de sangre, en personas adultas de ambos sexos, con edades comprendidas entre 18 y 65 años, que asistieron al Hospital José María Gomendio, de la ciudad de Ramallo, durante los meses de Octubre 2015 hasta Octubre 2016?

5. CONTEXTUALIZACIÓN.

La donación en el banco de sangre en el Servicio de Hemoterapia es una práctica habitual realizarse el fenotipo Rh a todos los donantes, siendo también importante practicar pruebas inmnohematológicas como (agrupación directa e inversa del grupo sanguíneo ABO y RH; panel uno y dos).

Al no realizarse la determinación del fenotipo Rh en varias oportunidades se habría tornado en una práctica habitual no realizar la misma y en muchas veces en emergencias y urgencias no se podía realizar por el escaso tiempo.

Por tal motivo, en lapso de un año se efectuó dicha determinación a todos los donantes que concurren masculinos y femeninos de lunes a viernes de 8 a 11 horas, correspondientes del fenotipo Rh en Ramallo, Provincia de Buenos Aires.

6. JUSTIFICACIÓN.

El conocimiento de la frecuencia del fenotipo Rh en la población de donantes resulta de particular relevancia debido a que de esta forma es posible efectuar una estricta selección de las unidades a transfundir, coincidiendo lo más exactamente posible con el fenotipo Rh del paciente.

7. OBJETIVOS

7.1. OBJETIVO GENERAL.

Determinar la frecuencia del fenotipo Rh en donantes que concurren al Banco de Sangre del Hospital José María Gomendio de la ciudad de Ramallo de la Provincia de Buenos Aires, en un período de tiempo desde Octubre de 2015 hasta Octubre de 2016.

7.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Analizar la frecuencia de Antígenos Rh en donantes de sangre del banco de sangre del Hospital José María Gomendio de Ramallo.
- Analizar presencia o ausencia de fenotipo Rh en todos los donantes de sangre que asisten a donar.
- Categorizar la muestra en donantes de sangre según el sexo, edad.

8. HIPÓTESIS.

El grado de conocimiento acerca de la donación de sangre se relaciona con la frecuencia del fenotipo Rh en personas adultas de ambos sexos, con edades comprendidas entre 18 y 65 años, que asistan al servicio de Hemoterapia del Hospital Jose María Gomendio de la ciudad de Ramallo, durante los meses de Octubre 2015 hasta Octubre 2016.

9. MARCO TEORICO.

9.1 ANTIGENOS

El nombre de sistema Rh se debe a Rhesus, resultado de una confusión con el antígeno LW, nombrado por Landsteiner y Wiener, quienes estudiaron anticuerpos desarrollados en cobayos y conejos inmunizados con eritrocitos del mono Rhesus. Cuando se diluyó el antisuero, (para eliminar la reactividad anti especies), aglutinaban los glóbulos rojos del 85% de los individuos estudiados.

Los términos “Rh positivo” y “Rh negativo” se refieren a la presencia o ausencia del antígeno D en los glóbulos rojos. A mediados desde 1940 se habían identificado cuatro antígenos Rh adicionales, el C, c, E, e además del D estos eran responsables de la mayoría de los anticuerpos clínicamente significativos, pero se había caracterizado más de 50 antígenos Rh. (Tabla 1)

TABLA I: Terminología numérica para los antígenos Rh.

Designación numérica	Antígeno o símbolo	Prevalencia	Designación numérica	Antígeno o símbolo	Prevalencia
Rh1	D	85% Blancos 92% Negros	Rh32*		1% Negros R ^m otros con DBT
Rh2	C	68% Blancos 27% Negros	Rh33	H _g ¹⁰⁰ D ₁₀₀ ¹⁰⁰	0,01% Alemanes Alta
Rh3	E	29% Blancos 22% Negros	Rh34**	H _r ¹⁰⁰	
Rh4	C	80% Blancos 96% Negros	Rh35		Baja
Rh5	E	98%	Rh36	Bo*	Baja
Rh6	ce o f	65% Blancos 92% Negros	Rh37	Evans	Baja (varios D/CE o CE/D híbridos)
Rh7	Ce o Rh ₁	68% Blancos 27% Negros	Rh39	Similar a C	Alta
Rh8	C ^w	Baja, 2% Blancos	Rh40	Tar	Baja (DVII)
Rh9	C ^x	Baja, 1,8% Finlandeses	Rh41	Similar a Ce	70% Blancos
Rh10	V	30% Negros	Rh42	Ce ^x , Cce ^x	2% Negros
Rh11	E ^w	Baja	Rh43	Crawford	0,1% Negros
Rh12*	G	84% Blancos 92% Negros	Rh44	Nou	Alta
Rh17*	H _r	Alta	Rh45	Riv	Baja
Rh18*	H _c , H _r ^b	Alta	Rh46	Sec	Alta
Rh19*	h ^a	98%	Rh47	Day	Alta
Rh20	VS	32% Negros	Rh48	JAL	Baja
Rh21	C ^x	68% blancos	Rh49 ¹¹	STEM	6% Negros
Rh22	CE	< 1% (DCE, CE)	Rh50	FPTT	Baja (DFH, R ₁₀₀ ^m)
Rh23*	D ^w	Baja (Dva)	Rh51	MAH	Alta
Rh26	Similar a c	Alta (mayormente c+)	Rh52 ¹¹	BARC	Baja (DVI)
Rh27	cE	28% Blancos 22% Negros (DcE, cE)	Rh53	JAHK	Baja
Rh28	hRh	Baja	Rh54*	DAK	Bajo (DIII ^a , DOL R ^m)
Rh29*	Rh total	100%	Rh55	LOCR	Baja
Rh30*	Go*	Baja (DIVa)	Rh56	CENR	Baja (CE/D híbrido)
Rh31*	H _r ^a	98%	Rh57	CEST	Alta
			Rh58	CELO	Alta

Fuente: AABB, Manual Técnico 17 edición.

La observación que la incompatibilidad ABO entre la madre y el feto tenía un efecto protector contra la inmunización al Rh sugería la bases para el desarrollo de la inmunoglobulina Rh sugería las bases para el desarrollo de la

inmunoglobulina Rh (IgG Rh). La hipótesis que proponía que los anticuerpos IgM eran responsables de la protección era incorrecta (el uso de IgM anti- no fue exitoso), pero se descubrió que la IgG anti-D era muy efectiva. Durante la década del '60, sólo 20 años después del descubrimiento de la incompatibilidad Rh, se pudo prevenir la EHFN causada por el anti-D.

9.1.1 TERMINOLOGÍA.

En medicina transfusional el Rh es el sistema más de grupo sanguíneo más importante luego del ABO. Este sistema es altamente inmunogénico y complejo, con numerosos polimorfismos y alelos clínicamente significativos.

La historia del Rh comenzó cuando se descubrió como causante de muerte fetal, neonatal e ictericia; llamado en este momento como “eritroblastosis fetal”. El síndrome presentaba embarazos complicados por varias décadas, la descripción más antigua registrada data del año 1600, de una partera francesa que había presenciado el parte de mellizos, uno de los cuales presentaba hydrops fetalis y la otra ictericia; ambos murieron de Kernicterus. (6)

El amplio espectro de los sistemas fetales, desde ictericia leve, Kernicterus, anemia muy severa hasta hidropesía severa mortal, no fue atribuido inmensamente a un único agente. Cuando se descubrió que un proceso inmunológico podía ser el responsable, se sugirió inicialmente a la hemoglobina fetal como la antígeno diana. Luego, en 1941, Levine realizó una observación clave cuando vinculó una reacción hemolítica postransfusional observada en la madre de un niño con Enfermedad hemolítica fetoneonatal porque había recibido una transfusión del padre del pequeño. (7)

El nombre de Sistema Rh se debe a Rhesus, resultado de una confusión con el antígeno LW, nombrado por Landsteiner y Wiener, quienes estudiaron anticuerpos desarrollados en cobayos y conejos inmunizados con eritrocitos del mono Rhesus. Cuando se diluyó el antisuero, (para eliminar la reactividad anti especies), aglutinaban los glóbulos rojos del 85% de los individuos estudiados.

La reactividad de este “anti Rhesus” surgió como un análogo de la reactividad del suero de aquellas mujeres que habían parido un feto con enfermedad hemolítica (8) por lo tanto se denomina Rh positivos” y “Rh negativo” se refieren a la presencia de o ausencia del antígeno D en los glóbulos rojos. Los 5 antígenos principales del Rh -D, C, c, E, e- eran responsables de la mayoría de los anticuerpos clínicamente significativos, pero se habían caracterizado más de 50 antígenos Rh.

La observación que la incompatibilidad ABO entre la madre y el feto tenía un efecto protector contra la inmunización al Rh sugería las bases para el desarrollo de la inmunoglobulina Rh (IgRh). (9)

La hipótesis que proponía que los anticuerpos IgM eran responsables de la protección era incorrecta (el uso de IgM anti -D no fue exitoso) pero se descubrió que la IgG anti -D era muy efectiva. (10)

Los antígenos Rh se heredan en bloques formando Haplotipos, y los genes del Rh son dos RHD y RHCE que codifican el antígeno D y el antígeno C, E, c, y e respectivamente. (6).

La terminología temprana sobre Rh refleja las diferencias de opinión en cuanto al número de genes que codificaban los antígenos De la terminología establecida por Fischer-Race en Inglaterra se basó en la premisa de que los responsables eran tres genes estrechadamente asociados C/c, E/e, y D, mientras que la nomenclatura de Wiener (Rh-Hr) Se basó en la creencia que un solo gen codificaba varios factores de grupos sanguíneos. Ninguna teoría era correcta. De hecho, hay dos genes, RHD y RHCE, como correctamente lo propusiera Tippett. (11).

Frecuentemente se prefiere la terminología CDE de Fischer-Race para la comunicación escrita, pero una versión modificada de la nomenclatura de Wiener permite expresar los antígenos Rh presentes en un cromosoma, es decir, un haplotipo, en un solo término. La letra mayúscula “R” se utiliza para indicar que D se encuentra presente y se utilizan subíndices para representar a los antígenos C/c y E/e encontrados con D:1 para Ce(R1),2 para cE (R2), “O” para ce (R0),y “Z”para CE (Rz).Una “r” minúscula indica que el haplotipo no posee D, y los antígenos C/c y E/e presentes sin D se representan por símbolos “prima”en superíndice para

Ce(r'), "doble prima" para Ce(r'') y CE "y" (r y). Ronsenfeld introdujo una nomenclatura numérica en 1962 que dio a cada antígeno Rh un número basado en el orden de su descubrimiento o asignación al sistema. Aunque no ampliamente utilizada, esta contribución histórica se aplica a menudo cuando se hace referencia a los antígenos de alta prevalencia del sistema Rh (por ejemplo, Rh17, Rh2, etc).

Con el objetivo de crear una nomenclatura uniforme el Equipo de trabajo en terminología para los antígenos de superficie de los Glóbulos Rojos la ISBT adoptó un número de seis dígitos para cada antígeno de glóbulo rojo. Los primeros tres números representan el sistema, y los dígitos restantes se refieren a la especificidad antigénica; al sistema Rh se le asignó el número 004. EN 2008, el comité de la ISBT estableció una glicoproteína (RHAG) como un nuevo sistema (número 0). (8) En la actualidad, la terminología del Rh distingue entre antígenos, genes y proteínas. Se hace referencia a los antígenos con la letra de designación D, C, c, E, e. Los genes Rh se indican con letras mayúsculas, con o sin bastardillas, se incluyen RHD Y RHCE. Los alelos de RHCE se designan RHCE ce, RHCE Ce, RHCEcE, y RHCE CE de acuerdo con los antígenos que estos codifican, y alelos RDH variantes o parciales se designan como RHD DVI, RHD DFR, etc.

Las proteínas se indican como RhD, o Rhce, RhCe, RhcE y RhCE, DE acuerdo a los antígenos específicos que tengan (12,13,14,15,16) La terminología establecida por Fisher-Race en Inglaterra se basó en la premisa de que los responsables eran tres genes estrechamente asociados C/c, E/e y D, mientras que la nomenclatura de Wiener (Rh-Hr) se basó en la creencia que un solo gen codificaba varios factores de grupos sanguíneos. Ninguna teoría era correcta. De hecho, hay dos genes, RHD Y RHCE, como correctamente lo propusiera Tippett. Frecuentemente se prefiere la terminología CDE de Fisher-Race para la comunicación escrita, pero una versión modificada de la nomenclatura de Wiener permite expresar los antígenos Rh presentes en un cromosoma, es decir, un haplotipo, en un solo término. (Tabla 2)

TABLA II: Prevalencia de los Haplotipos Rh principales

Haplotipo Fisher - Race	Haplotipo modificado por Wiener	Prevalencia (%)		
		Blanco	Negro	Asiático
Rh positivo				
D ⁺ Ce ⁻	R ₁	42	17	70
D ⁺ Ce ⁺	R ₂	14	11	21
D ⁻ ce ⁻	R ₀	4	44	3
D ⁺ Ce ⁻	R ₂	<0.01	<0.01	1
Rh negativo				
Ce	r	37	26	3
Ce	r'	2	2	2
cE	r''	1	<0.01	<0.01
CE	r ^y	<0.01	<0.01	<0.01

Fuente: AABB Manual Técnico 17a edición.

La letra mayúscula “R” se utiliza para indicar que D se encuentra presente y se utilizan subíndices para representar a los antígenos C/c y E/e encontrados con D:1 para Ce (R1),2 para c,E((R2),”0” para ce (R0),y “Z” para CE(Rz).Una “r” minúscula indica que el haplotipo no posee D, y los antígenos/c y E/e presentes sin D se representan por símbolos “ prima” en superíndice para Ce (r’), “doble prima” para c,E(r’’) y para CE “y” (ry) Rosenfeld introdujo una nomenclatura numérica en 1962 que dio a cada antígeno Rh un número basado en el orden de su descubrimiento o asignación al sistema.(Ver Tabla 2)

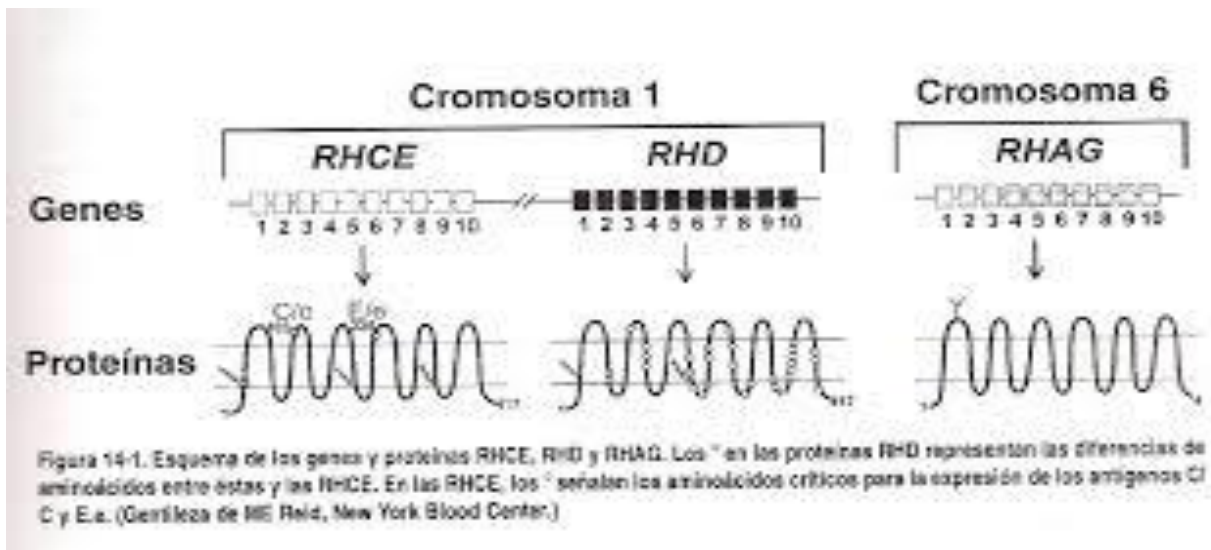
Con el objetivo de crear una nomenclatura uniforme el Equipo de Trabajo en Terminología para los antígenos de Superficie de los Glóbulos Rojos de la ISBT adoptó un número de seis dígitos para cada antígeno de glóbulo rojo. Los primeros tres números representan el sistema y los dígitos restantes se refieren a la especificidad antigénica; al sistema Rh se le asignó el número 004.

En la actualidad, la terminología del Rh distingue entre antígenos, genes y proteínas. SE hace referencia a los antígenos con la letra de designación D, C, E, c, e. Los genes Rh se indican con letras mayúsculas, con o sin bastardillas, se incluye RHD y RHCE.

9.1.2 GENES Y PROTEÍNAS RH.

Los dos genes (RHD y RHCE) se encuentran en estrecha proximidad en el cromosoma 1, y codifican 416 aminoácidos de proteínas Rh; uno codifica el antígeno D y el otro los antígenos CE en varias combinaciones (ce, cE, ce, o CE) (Imagen 1)

IMAGEN N° 1: Genes y proteínas Rh.



Fuente: AAHI, Manual Técnico 17^o Edición.

La mayoría de los fenotipos D-negativos (Rh negativo) son el resultado de la supresión completa del gen RHD. La exposición al Rh en un individuo D-negativo frecuentemente induce la síntesis de anticuerpos con especificidad anti-D. La inmunogenesidad de una proteína se correlaciona con el grado de exposición, y el gran número de diferencias en aminoácidos por que la exposición al Rh D puede provocar una respuesta inmune potente.

El RHCE (presente en todos, pero raro en individuos D-, donde los guiones representan los antígenos faltantes) codifica los antígenos C/c y E/ e de una proteína individual.

Los cinco antígenos principales son responsables de la mayoría de las incompatibilidades, aunque el sistema es más complejo, y ya se ha designado hasta el antígeno Rh 58. (Tabla 3)

TABLA III: Determinación de los genotipos Rh más probables y fenotipos de acuerdo con las pruebas efectuadas con los cinco reactivos principales de tipificación.

Anti-D	Anti-C	Anti-E	Anti-c	Anti-e	Fenotipo	Genotipo más probable	Genotipo alternativo
Rh Positivo*							
+	+	0	+	+	D, C, c, e	$R^1 r$ DcE/Ce	$R^1 R^0$ DcE/Dce $R^0 r$ DcE/ce
+	+	0	0	+	D, C, e	$R^1 R^1$ DcE/DcE	$R^1 r$ DcE/Ce
+	+	+	+	+	D, C, c, E, e	$R^1 R^2$ DcE/DcE	$R^1 r$ DcE/cE $R^2 r$ DcE/Ce $R^2 r$ $DCEce$ $R^0 R^2$ Dce/DCE
+	0	0	+	+	D, c, e	$R^0 r$ Dce/ce	$R^0 R^0$ Dce/Dce
+	0	+	+	+	D, c, E, e	$R^2 r$ DcE/ce	$R^2 R^0$ DcE/Dce $R^0 r$ Dce
+	0	+	+	0	D, c, E	$R^2 R^2$ DcE/DcE	$R^2 r$ DcE/cE
+	+	+	0	+	D, C, E, e	$R^1 R^2$ DcE/DCE	$R^2 r$ DCE/Ce
+	+	+	+	0	D, C, c, E	$R^2 R^2$ DcE/DCE	$R^2 r$ DCE/cE
+	+	+	0	0	D, C, E	$R^2 R^2$ DCE/DCE	$R^2 r$ DCE/CE
Rh Negativo†							
0	0	0	+	+	c, e	rr ce/ce	
0	+	0	+	+	C, c, e	r Ce/ce	
0	0	+	+	+	c, E, e	r cE/ce	
0	+	+	+	+	C, c, E, e	r Ce/cE	

*Genotipos raros no mostrados (<0.01%) $R^0 R^0$, $R^1 R^1$, $R^1 R^2$, $R^2 R^2$.
†Genotipos raros no mostrados (<0.01%) $r r$, $r r$, $r r$, $r r$, $r r$.

Fuente: AABB Manual Técnico.17 Edición.

9.1.3 ANTÍGENOS.

El antígeno D es el más inmunogénico, seguido por c y E. Las pruebas de rutina en donantes y pacientes sólo identifican al D.

Estas pruebas -se realizan para otros antígenos Rh comunes principalmente cuando es necesario resolver o confirmar la presencia de anticuerpos, aunque en anemias falciformes existen programas de transfusión que realizan la tipificación extendida e los antígenos D, C y E (además del K) y así reducir la aloinmización.

9.1.4 FENOTIPO RH.

Los resultados de las pruebas de tipificación de glóbulos rojos con los cinco antígenos principales se muestran en la (Tabla 3). Junto con algunos fenotipos Rh y el genotipo Rh probable. Algunos genotipos son más comunes en grupos étnicos específicos.

Los antisueros no pueden determinar si los glóbulos rojos pertenecen a un homocigoto (D/D) o heterocigoto (D/-) ya que el anti-D raramente muestra una diferencia de reactividad entre glóbulos rojos con una simple o doble dosis del

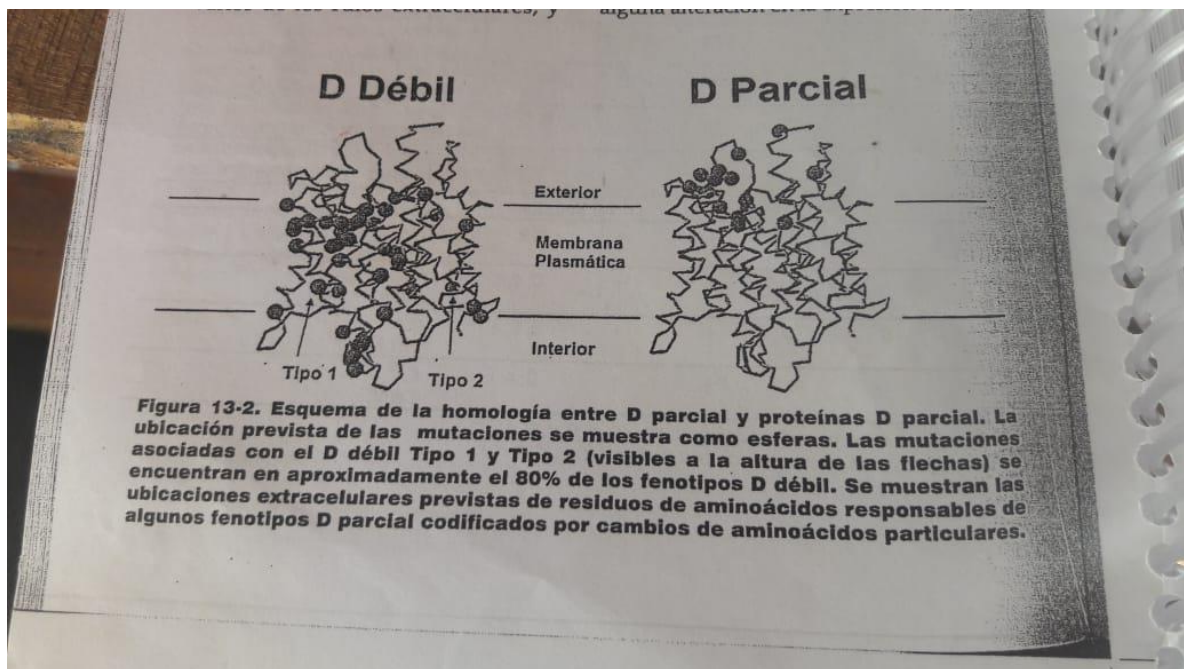
antígeno D. La cigocidad RHD se puede determinar mediante pruebas de biología molecular que investigan el ADN la presencia de una delección del RHD o un RHD inactivo. El conocimiento de la cigocidad RHD paterna es importante en la práctica prenatal para predecir la presencia del antígeno D en el feto y así evaluar el riesgo de EHFN cuando la madre ha sintetizado anti-D.

9.1.5 EL ANTÍGENO D.

El antígeno D está compuesto por numerosos epitopes (epD), que se definieron originalmente a través de anticuerpos encontrados en individuos D- positivos que generalmente anti-D. Estudios posteriores con anticuerpos monoclonales definieron 30 o más epitopes designados como epD1 a epD9 con subdivisiones (por ejemplo, ep D6. 1, etc).

Los epitopes D son más que simples residuos de aminoácidos lineales, además de ser altamente conformacionales. Muchos epitopes involucran varios de los rulos extracelulares y cambios de aminoácidos en los segmentos intracelulares de la proteína pueden alterarlos. La estructura del antiguo homólogo del Rh, la proteína AmtB de la Echerichia coli y el reciente conocimiento de la estructura de la proteína renal humana, RhCG han hecho posible un modelo tridimensional, que permitió comprender la conformación de las proteínas de los grupos sanguíneos. (Imagen 2)

IMAGEN N° 2: Esquema de la homología entre D parcial y proteínas D parcial.



Fuente: AABB Manual Técnico 17 Edición.

9.1.6 D POSITIVO (RH POSITIVO)

La mayoría de los fenotipos de glóbulos rojos poseen una proteína RhD convencional. (Tabla 8). Se ha informado sobre más de 100 alelos de RHD que codifican proteínas con cambios en los aminoácidos. Estos pueden causar numerosas variaciones en la expresión del Ag. D, estas incluyen a los fenotipos D débil, D parcial y D el.

9.1.7 D DÉBIL (ANTIGUAMENTE DENOMINADO DU)

Los glóbulos rojos D débil tenían una cantidad de antígeno D reducida, lo cual requiere para su detección una prueba de antiglobulina indirecta (PAI).

La expresión D débil se produce por mutaciones en los nucleótidos del RHD que inducen cambios en los aminoácidos intracelulares, o en la región transmembrana del RhD más que en la superficie de los glóbulos rojos.

9.1.8 D DÉBIL SECUNDARIO A LA PRESENCIA DE C.

Un fenotipo D débil puede aparecer cuando Ce está presente en la posición trans en el gen RHD.

Además, una mayor depresión de un D Débil secundaria a Ce puede aparentar un D- negativo o un fenotipo D el, en una muestra que sea R débil D r'.

9.1.9 D PARCIAL.

Los glóbulos rojos con D parcial se tipifican como D positivo, pero estos individuos pueden inducir la síntesis de anti-D cuando están expuestos al antígeno D convencional. Estos glóbulos rojos se han perdido partes del D, y de hecho la mayoría de los fenotipos D parcial se debe a genes híbridos en los cuales las porciones del RHCE reemplazan a las porciones correspondientes al RHD.

9.1.10 D ELEVADO.

Varios deleciones de fenotipos, considerados como D--, Dc-, y DCw- han elevado la expresión del antígeno D y no, de los C/c y E/e débilmente alterados. Es lo contrario del D y no, de los C/c y E/ e débilmente alterados. Es lo contrario del D parcial discutido anteriormente y ocurre como resultado del reemplazo de las porciones de RHCE por RHD. Las secuencias adicionales de RHD en RHCE, junto con el RHD normal explican la aparición del antígeno D elevado y dan cuenta de los antígenos C/c y E/e faltantes. (Imagen 3)

IMAGEN 3: Esquema de los genes RHD y RHCE.



Fuente: AABB Manual Técnico 17ª Edición.

9.1.11 EPITOPES D Y D “LIKE” EN RHCE.

La expresión de epitopes mediante el producto de la proteína del gen RHCE, en ausencia de RHD, complican aún más la determinación del estatus D. Varias proteínas Rhce tienen aminoácidos D específicos que reaccionan con algunos anti-D monoclonales. Frecuentemente se encuentran en una población específica. Algunos ejemplos incluyen el Dhar, presente en individuos de descendencia alemana, y el Crawford,(ceCF) encontrado en individuos de descendencia africana.

Estos dos son notables porque los glóbulos rojos presentan una fuerte reactividad con algunos reactivos monoclonales, pero son no reactivos con otros, incluyendo a los anti-D policlonales.

Los fenotipos Dhar y Crawford pueden causar discrepancias en la tipificación de D.

9.1.12. D NEGATIVO (RH NEGATIVO)

El fenotipo D negativo prevalece en blancos (15 a 17%), en menos probable en negros africanos (3%-5%) y raro en asiáticos (menor 0. 1%). Este fenotipo ha surgido en varios grupos étnicos como evidencia de diferentes mutaciones responsables de la falta de expresión del antígeno D. En la mayoría de los blancos, surge de la supresión del gen RHD completo.

9.1.13 TIPIFICACIÓN DE D.

9.1.14 REACTIVOS.

Los primeros reactivos desarrollados para tipificar al antígeno D utilizaban los anticuerpos sintetizados por las mujeres sensibilizadas por embarazos, o voluntarios inmunizados. Estos anticuerpos policlonales son primariamente IgG y reconocen numerosos epitopes del D.

Las sustancias aditivas de alto valor proteico elevan la potencia pero pueden causar la aglutinación de glóbulos rojos y requieren que se realicen pruebas de control apropiadas. (VER INSERTO DEL REACTIVO)

Los anticuerpos monoclonales, fueron introducidos al mercado en los '80, liberando a los fabricantes e la dependencia de fuentes de materia prima

humana; sin embargo, los anticuerpos específicos para un epítipo D individual no detectaban todos los glóbulos rojos D positivos.

Consecuentemente, muchos reactivos anti-D aprobados por la FDA combinan un anticuerpo monoclonal IgM, reactivo a temperatura ambiente, y uno IgG monoclonal o policlonal, reactivo por PAI, para la determinación del D débil. El anti-D débil. El anti-D para las pruebas de aglutinación en columna es una excepción y contiene sólo una IgM monoclonal.

9.1.15 DONANTES.

El objetivo de tipificar el estatus D en donantes es prevenir la aloinmunización anti-D en los receptores, lo cual incluye la identificación de unidades con el antígeno D débil o parcial.

Por lo tanto, los Estándares para los bancos de sangre y servicios de transfusión de la AABB exigen que se estudie la sangre de los donantes mediante un método que detecte la expresión débil del D y que se rotule como “Rh positivo” si la prueba resulta positiva.

Se debe confirmar na unidad rotulada como Rh negativo (D negativo) antes de la transfusión (no exige prueba confirmatoria para D débil), y se debe informar sobre discrepancias a la institución que haya realizado la extracción y resolverlas antes de habilitar la unidad de sangre para transfusión. La mayoría de las unidades con antígeno D débil o D parcial son detectadas con estos métodos. Los glóbulos rojos D el son no reactivos con el anti D, aún con prueba de antiglobulina indirecta.

Aunque los glóbulos rojos con antígeno D débil son menos inmunogénicos que los glóbulos rojos D positivo, las unidades D muy débiles y D el de donantes han inducido la síntesis de anti D negativo, se debe investigar en los componentes rotulados como Rh negativo que puedan haber estimulados la síntesis de anti-D en los receptores mediante métodos inmunohematológicos y de biología molecular para confirmar el estatus del antígeno D.

El estudio del genotipo RHD puede identificar la presencia de la expresión RhD potencialmente inmunogénica no detectada por estudios inmunohematológicos.

9.1.16. PACIENTES.

Cuando se determina el tipo D de un paciente, no es necesaria una prueba de D débil excepto que se estén evaluando los glóbulos rojos de un lactante cuya madre esté en riesgo de aloinmunización por el antígeno D.

La realización de sólo una prueba directa en niñas y mujeres en edad reproductiva evita el riesgo de sensibilización mediante la tipificación de DVI como profilaxis con inmunoglobulina anti-D.

9.1.17 DISCREPANCIAS DURANTE LA TIPIFICACIÓN DEL ANTÍGENO D.

Las discrepancias durante la tipificación del D, deben ser investigadas y resueltas siempre, la sangre Rh negativo es una opción apropiada para pacientes que necesitan una transfusión inmediata, pero se debe realizar una investigación de un error administrativo e inmunohematológica exhaustiva.

9.1.18 GENOTIPIFICACIÓN DEL RH.

Las pruebas de biología molecular que utilizan la reacción en cadena de la polimerasa(PCR),es un complemento importante de las pruebas que se utilizan para tipificar pacientes transfundidos, determinar la cigosidad del RHD, tipificar al feto de manera no invasiva, resolver el estatus de D,y encontrar sangre compatible para pacientes con anemia drepanocítica.

9.1.19 TIPIFICACIÓN DE PACIENTES POLITRANSFUNDIDOS.

En pacientes que reciben transfusiones en forma crónica o masiva, la presencia de glóbulos rojos de donantes de sangre periférica frecuentemente hace que la fenotipificación globular por aglutinación sea difícil e inexacta, especialmente en pacientes con reticulocitosis.

En el caso de pacientes dependientes de una terapia transfusional, que producen aloanticuerpos, un perfil extendido de antígenos permite determinar antígenos adicionales de grupos sanguíneos a los cuales éstos pacientes se pueden sensibilizar.

9.1.20 PRUEBA DE CIGOSIDAD DEL RHD.

La cigosidad del gen RHD puede ser determinada mediante pruebas con el objeto de investigar la presencia de un alelo RHD D negativo recesivo. En la

práctica neonatal, la prueba de cigosidad RHD paterna es importante para predecir el estatus D del feto cuando la madre tiene anti-D.

Si el padre es homocigota RHD, el feto será D positivo y será necesario un monitoreo del embarazo más exhaustivo. Si el padre es heterocigoto, se debe determinar el estatus D del feto para prevenir pruebas invasivas e innecesarias durante el embarazo.

9.1.21. TIPIFICACIÓN EL RHD FETAL.

Para determinar el estatus del antígeno D, el ADN fetal puede ser aislado de las células obtenidas mediante amniocentesis o muestra de vellosidades coriónicas. Una alternativa no invasiva es realizar una prueba en el plasma materno que contiene células fetales libres, aproximadamente a las 5 semanas de gestación. El ADN fetal en el plasma materno deriva del sincitiotrofoblasto apoptótico, aumenta en concentración con el tiempo de gestación y se elimina rápidamente luego el parto. Las pruebas requieren varios mililitros de plasma materno, métodos de PCR sensibles en tiempo real y controles para amplificar apropiadamente las pequeñas cantidades de ADN fetal.

En el futuro, la determinación del estatus del RHD fetal con este procedimiento no invasivo puede convertirse en una práctica de rutina clínica para eliminar la administración innecesaria de inmunoglobulina anti-D preparto, en aproximadamente el 40% de las mujeres D-negativo que darán a la luz a un niño D negativo.

9.1.22. CONFIRMACIÓN DEL ESTATUS

La genotipificación RHD es útil para discriminar el D parcial y el D débil o resolver las discrepancias inmunohematológicas durante la tipificación de D.

9.1.23. ANTICUERPOS RH.

La mayoría de los anticuerpos Rh son IgG, aunque algunos sueros pueden tener un componente IgM.

Generalmente, no activan complemento, aunque se han informado raras excepciones.

Como resultado, en las reacciones transfusionales que involucran anticuerpos anti-Rh, la hemólisis es principalmente extravascular más que intravascular.

La causa de la producción de anticuerpos es, en la mayoría de los casos causada por inmunización de glóbulos rojos durante el embarazo/parto o transfusiones y usualmente persiste por muchos años.

Se debe considerar que la mayoría de los anticuerpos anti-Rh tienen la posibilidad de causar reacciones postransfusionales y EHFN clínicamente significativas. El anti-c es el anticuerpo Rh más importante después del anti-C, -E y -e no siempre causan EHFN, y cuando lo hacen, es usualmente leve.

Si los niveles del anticuerpo en suero caen por debajo el valor detectable. La subsiguiente exposición al antígeno producirá en forma característica una rápida respuesta inmune.

9.1.24. ANTICUERPOS RH CONCOMITANTES.

Algunos anticuerpos Rh se encuentran juntos. Por ejemplo, un paciente con D_{Ce}/C_e y con anti-E muy probablemente ha estado expuesto al antígeno c también. El anti-c puede estar presente junto al anti-E pero puede ser débil y no detectable en el momento de la prueba. La sangre E negativo muy probablemente será c positivo y su transfusión puede provocar una reacción inmediata o tardía, por lo tanto hay quienes son partidarios de evitar la transfusión de sangre c positivo en esta situación.

10. DISEÑO METODOLÒGICO

10.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN Y DISEÑO

Se llevará a cabo un estudio de tipo cuantitativo ya que se evaluará la cantidad de donantes que asisten a donar y su relación con la frecuencia de fenotipo Rh en sangre.

Prospectivo, descriptivo, observacional y transversal debido a que se recolectaron los datos de manera directa a través de los sujetos en estudio, en los cuáles no se provocó ningún cambio y la recolección de los datos fue en un momento determinado.

10.2 POBLACIÓN

La población estuvo formada por personas de ambos sexos con edades comprendidas entre 18 y 65 años, que asistieron a donar sangre en el banco de Sangre intrahospitalario del Hospital José María Gomendio de la ciudad de Ramallo.

10.3 VARIABLES DE ESTUDIO

Las variables a evaluar en este estudio fueron:

- ✓ Sexo;
- ✓ Edad,
- ✓ Frecuencia de fenotipo Rh;
- ✓ Factor Rh;

- **Sexo**

Característica: variable cualitativa.

Definición: Condición orgánica, femenina o masculina, a la que pertenece el individuo.

Se caracteriza de la siguiente manera:

- ✓ Femenino
- ✓ Masculino

- **Edad**

Característica: variable cuantitativa.

Definición: tiempo de existencia desde el nacimiento del individuo.

Indicador: años cumplidos desde el nacimiento hasta el momento del estudio.

Se categoriza de la siguiente manera

- ✓ De 18 a 28 años;
 - ✓ De 29 a 39 años;
 - ✓ De 40 a 59 años;
 - ✓ De 60 a 65 años.
- Frecuencia fenotipo Rh

Característica: variable cualitativa.

Definición: La herencia de los antígenos Rh es determinada por un complejo de dos genes, de los cuales uno codifica la proteína transportadora de antígeno D y otro codifica la proteína transportadora de antígeno «C» o «c», o de «E» y «e». Las personas Rh positivas poseen genes RHD, que codifica la proteína transportadora de antígeno D y RHCE, que codifica la especificidad de la proteína transportadora de C y E. Mientras las Rh negativas tienen únicamente el gen RHCE.

10.4 PROCEDIMIENTOS:

Se realizará con reactivos monoclonales de diferentes marcas: Rediar, Wiener. En cada caso se respetaron las instrucciones de cada fabricante.

- ❖ La técnica se realizará, en tubo y placa.
- ❖ **En tubo :**
- ❖ Una suspensión en tubo de 2-5% de glóbulos rojos con tres lavados de solución fisiológica 2' a 500 rpm,
- ❖ En el último lavado, se descarta todo el sobrenadante y dejando solo el botón de glóbulos rojos pegado en el fondo del tubo se le agrega dos gotas de reactivo de Coombs poliespecífico y se centrifugará 5'' a 1000 rpm.
- ❖ Se realiza una lectura en el aglustinoscopio observando la presencia de aglutinación o no.
- ❖ La presencia del antígeno Rh se demuestra con un aglutinado.

❖ **En placa**

- ❖ Se coloca en portaobjetos una gota de sangre con anticoagulante (edta) y una gota de cada reactivo C, E, c, e. en las gotas de sangre colocadas en e portaobjetos separadas de un centímetro cada una.
- ❖ Se mezcla con una varilla la sangre con el reactivo.
- ❖ Se observa durante un minuto en aglustinoscopio.
- ❖ Si presenta aglutinación el antígeno, está presente sino no.

10.5. MUESTRA

La muestra estuvo formada por 263 personas que al momento del estudio asistieron a donar sangre al banco de Sangre intrahospitalario del Hospital José María Gomendio de la ciudad de Ramallo.

10.6 CRITERIOS DE INCLUSION

- ❖ Donantes femeninas y masculinos.

- ❖ Donantes voluntarios y de reposición.

10.7 CRITERIOS DE EXCLUSION

- ❖ Muestras de donantes de sangre diferidos por distintas causas.
- ❖ Unidades derivadas a otros servicios.
- ❖ Muestras que presentan fenotipo incompleto por falta de reactivos al momento de realizarse las determinaciones.
- ❖ Muestras que no se realizó el grupo Sanguíneo ni tampoco el factor Rh.
- ❖
- **Período estudiado:** Mes de Octubre de 2015 hasta Octubre 2016.

- **Consideraciones éticas:**

Los datos serán mantenidos en el anonimato para garantizar la confidencialidad de la investigación.

10.8 TECNICA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Serán obtenidas en forma prospectiva del libro de Registro de Donantes del Servicio del Banco de Sangre Intrahospitalario del Hospital José María Gomendio de la ciudad de Ramallo desde Octubre 2015 hasta Octubre 2016 con una cantidad de 225 donantes de sangre.

10.9 INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

- Registro de donantes (Ver Anexo N° 1)

10.11 OPERACIONALIZACIÓN

Se pidió autorización al Dr. Ponte Mario, Jefe de servicio, para poder realizar el registro de los donantes que asisten al servicio de hemoterapia y la misma se llevaron a cabo durante los meses de Octubre 2015 hasta Octubre 2016.

Para poder determinar el fenotipo Rh a todos los donantes se estudió la sangre realizando las técnicas Inmnohematològicas con los reactivos, materiales que disponía el servicio, como tubos de hemólisis, portaobjetos, pipetas Pasteur, solución fisiológica, centrífuga de mesa, baño termostatizado, timer.

Luego de realizar los fenotipos Rh de todos los donantes correspondientes, se pudo clasificar en distintas frecuencias del fenotipo Rh (C,E,e,c) encontrados.

Para poder analizar los resultados, se construyeron tablas y gráficos.

11. REFERENTE EMPIRICO.

El partido de Ramallo se encuentra en el noreste de la Provincia de Buenos Aires de la República Argentina ; limita con los Partidos de:al noroeste con San Nicolás (separados por el arroyo Ramallo), al suroeste con Pergamino y Arrecifes, al sureste con San Pedro y al noreste con la provincia de Entre Ríos, separados por el río Paraná. Es accesible vera la autopista Ruta 9, y posee un puente de acceso que coincide con el trazado de la RP 51.

Tiene una población según el censo realizado en el año 2010 de 33.042.habitantes.

Este estudio se llevó a cabo en el servicio de hemoterapia del Hospital José María Gomendio, ubicado en calle Gomendio N° 1374 de la ciudad.

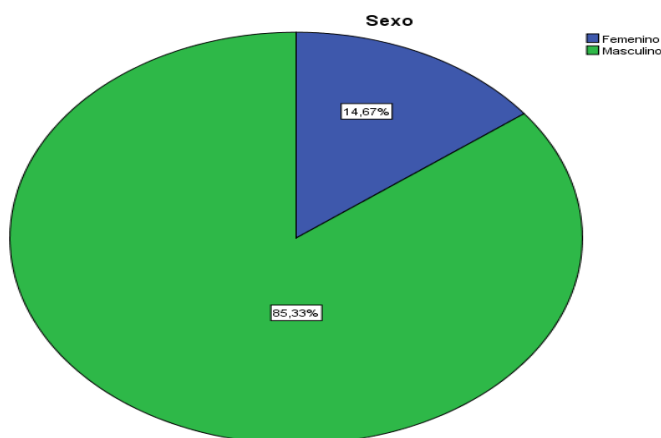
12. RESULTADOS

TABLA IV: Donantes clasificados según el sexo.

Se estudiaron 225 personas que asistieron durante los meses de Octubre del año 2015 hasta Octubre del año 2016 al Servicio de hemoterapia del Hospital Jose Maria Gomendio de la ciudad de Ramallo, encontrando que 33 (14,7%) son de sexo femenino y 192 (85,3%) del sexo masculino.

		Sexo			
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Femenino	33	14,7	14,7	14,7
	Masculino	192	85,3	85,3	100,0
	Total	225	100,0	100,0	

GRAFICO N° 1: Donantes clasificados según el sexo.



Fuente: elaboracion propia.

TABLA V : Donantes clasificados según el grupo etario.

Se estudiaron 225 donantes entre 18 a 65 años mujeres y hombres, observándose

		Edad			
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	18	1	,4	,5	,5
	24	1	,4	,5	,9
	25	1	,4	,5	1,4
	26	5	2,2	2,3	3,7
	27	3	1,3	1,4	5,1
	29	9	4,0	4,1	9,2
	30	8	3,6	3,7	12,9
	31	9	4,0	4,1	17,1
	32	14	6,2	6,5	23,5
	33	10	4,4	4,6	28,1
	34	8	3,6	3,7	31,8
	35	10	4,4	4,6	36,4
	36	12	5,3	5,5	41,9
	37	13	5,8	6,0	47,9
	38	13	5,8	6,0	53,9
	39	19	8,4	8,8	62,7
	40	15	6,7	6,9	69,6
	41	14	6,2	6,5	76,0
	42	15	6,7	6,9	82,9
	43	6	2,7	2,8	85,7
	44	7	3,1	3,2	88,9
	45	4	1,8	1,8	90,8
	46	3	1,3	1,4	92,2
	47	2	,9	,9	93,1
	48	1	,4	,5	93,5
	49	2	,9	,9	94,5
	50	2	,9	,9	95,4
	51	3	1,3	1,4	96,8
	52	3	1,3	1,4	98,2
	54	1	,4	,5	98,6
	55	1	,4	,5	99,1
	58	1	,4	,5	99,5
	61	1	,4	,5	100,0
	Total	217	96,4	100,0	
Perdidos	Sistema	8	3,6		
Total		225	100,0		

que la mayor parte son entre 32 a 42 años.

GRAFICO N°2: Donantes clasificados según el grupo etario.

Fuente: elaboración propia.

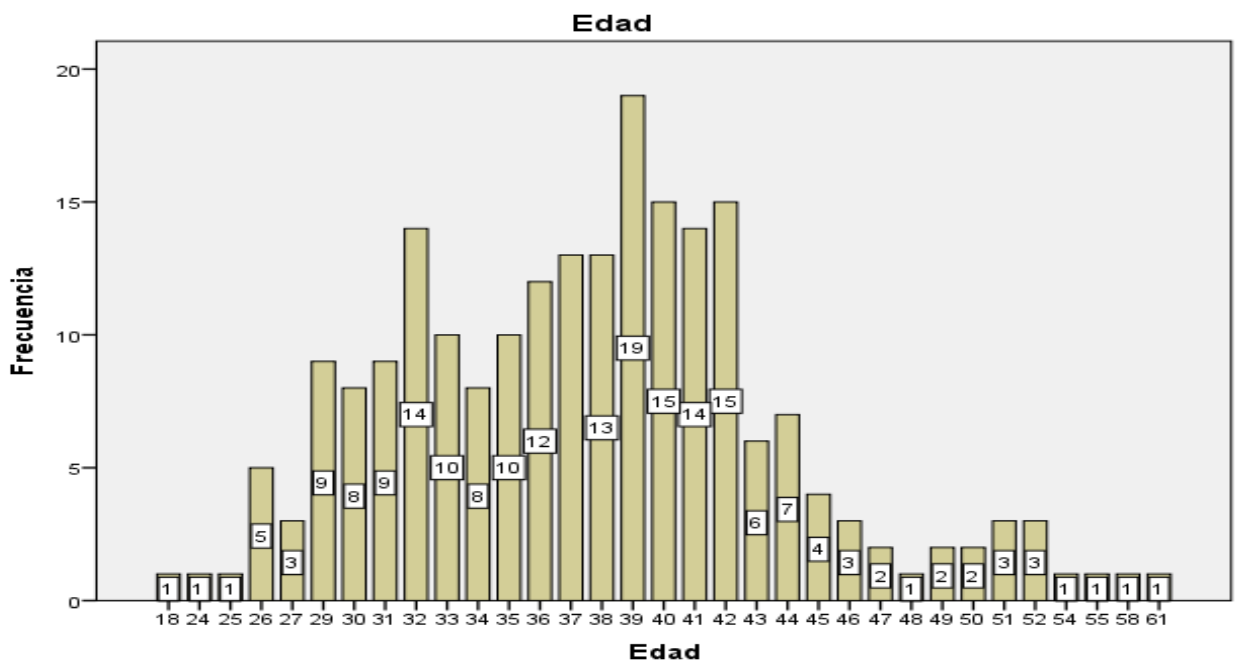
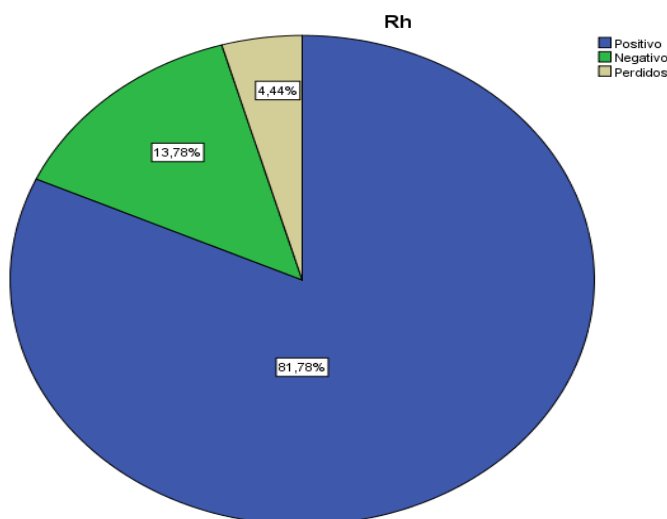


TABLA VI: Donantes clasificados según el factor Rh.

Del total de donantes estudiados mujeres y varones se observó (81,8%) son positivos y (13,8%) son negativos en un total de 225 muestras.

		Rh			
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Positivo	184	81,8	85,6	85,6
	Negativo	31	13,8	14,4	100,0
	Total	215	95,6	100,0	
Perdidos	Sistema	10	4,4		
Total		225	100,0		

GRAFICO N° 3: Donantes clasificados según el factor Rh.



Fuente: elaboracion propia.

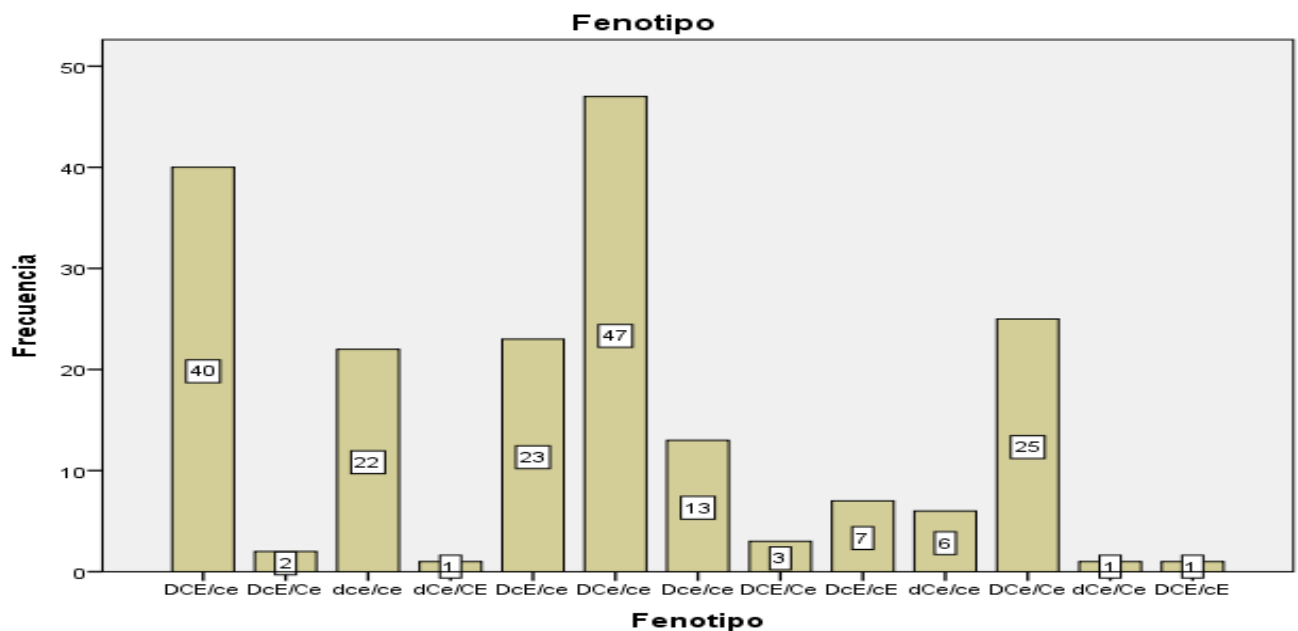
TABLA VII: Donantes clasificados según su Fenotipo Rh.

De un total de 47 muestras se obtuvo (20,9%) de fenotipo rh DCe/ ce ; (17,8%) de fenotipo rh DCE/ce; y finalmente (10,2%) de fenotipo rh Dce/Ce.

		Fenotipo			
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	DCE/ce	40	17,8	20,9	20,9
	DcE/Ce	2	,9	1,0	22,0
	dce/ce	22	9,8	11,5	33,5
	dCe/CE	1	,4	,5	34,0
	DcE/ce	23	10,2	12,0	46,1
	DCE/ce	47	20,9	24,6	70,7
	Dce/ce	13	5,8	6,8	77,5
	DCE/Ce	3	1,3	1,6	79,1
	DcE/cE	7	3,1	3,7	82,7
	dCe/ce	6	2,7	3,1	85,9
	DCE/Ce	25	11,1	13,1	99,0
	dCe/Ce	1	,4	,5	99,5
	DCE/cE	1	,4	,5	100,0
	Total		191	84,9	100,0
Perdidos	Sistema	34	15,1		
Total		225	100,0		

Fuente: elaboracion propia.

GRAFICO N°4: Donantes clasificados según su Fenotipo Rh.

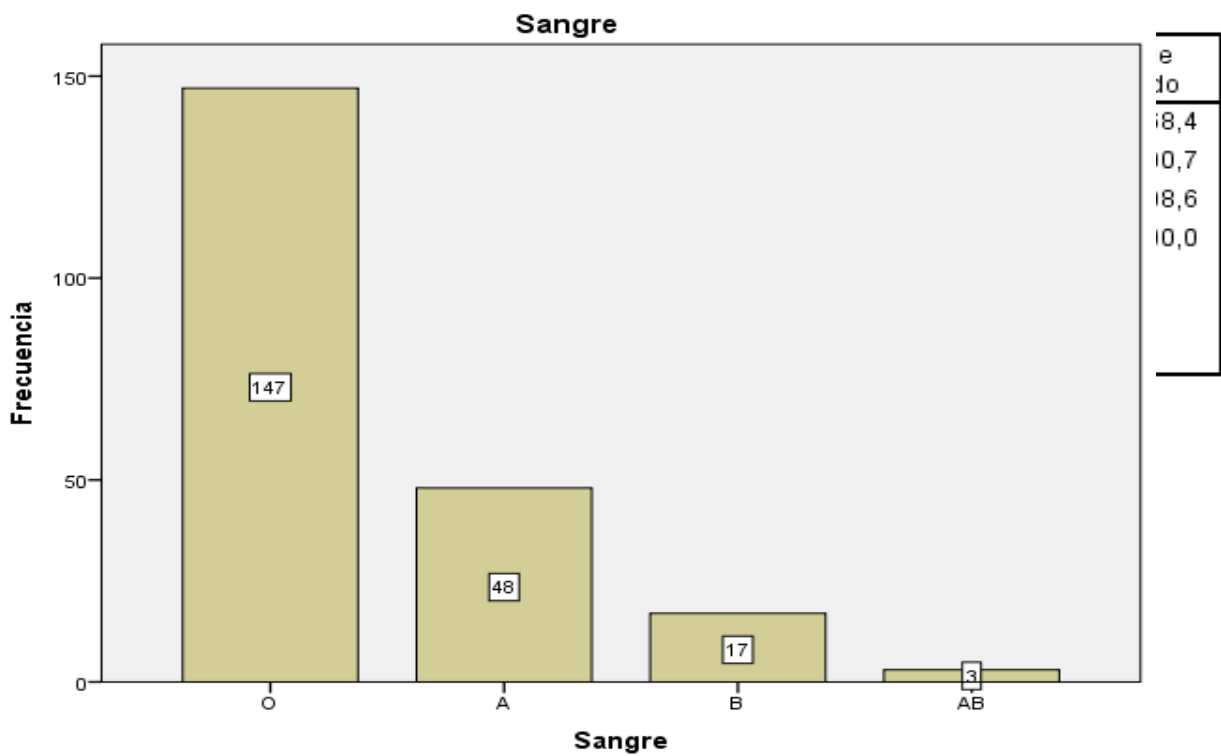


Fuente: elaboracion propia.

TABLA VIII: Donantes clasificados segun el grupo sanguineo.

Del total de donantes 147 son O, 48 personas son A, 17son B y 3 personas son AB.

GRAFICO N° 5: Donantes clasificados segun el grupo sanguineo.



Fuente: elaboracion propia

13. CONCLUSION

La categoría o variantes del fenotipo mas frecuente encontradas en la población de sangre estudiada fueron de un total de 225 donantes mujeres y varones que asistieron al servicio de hemoterapia del Hosital Jose Maria Gomendio;

- 47 muestras se obtuvieron (20.9%) de fenotipo rh DCe/ ce ;
- 40 muestras se obtuvieron(17,8%) de fenotipo rh DCE/ce; y finalmente
- 23 muestras se obtuvieron (10.2%) de fenotipo rh DcE/Ce.
- Perdidos de un total de 34 donantes

Donantes clasificados según el sexo.

De un total 225 donantes:

- ✓ De 33 donantes Femeninos, 14.7%
- ✓ De 192 donantes Masculinos, 85%

Donantes clasificados según el grupo etario.

De un 225 donantes:

- ✓ De 19 donantes, el 8% presentan 39 años.
- ✓ De un total 15 donantes, el 7% presentan 40 y 42 años.
- ✓ De un total 14 donantes, el 6% presentan 32 años.
- ✓ De un total 13 donantes, 6% presenta 37 y 38 años.

Donantes clasificados según el Factor Rh.

De un total de 225 donantes:

- ✓ De un total de 184 donantes, presentan Factor Rh positivo el 85,6%.
- ✓ De 31 donantes, presentan Factor Rh negativo el 14,4%.
- ✓ Perdidos 4,4% de un total de 10 donantes.

Donantes clasificados según el grupo sanguíneo.

De un total de 225 donantes:

- ✓ De un total de 147 donantes, el 65% son “0”.
- ✓ De un total de 48 donantes, el 21 % es “A”
- ✓ De un total de 17 donantes, el 7,6% son “B”.
- ✓ De un total de 3 donantes, el 1,3% son “AB”.
- ✓ Perdidos 10 donantes, con un 4,4%.

14. DISCUSION

En los últimos años se ha venido observando que la necesidad unidades de sangre de determinados fenotipos ha ido en aumento debido a la mayor sobrevivencia a largo plazo de pacientes sometidos a tratamientos oncológicos, hemodiálisis, trasplantes de órganos y de médula ósea; y de otras situaciones clínicas que requieren un amplio soporte hemoterapéutico.

Los antígenos del sistema Rh aparecen en las primeras etapas de la diferenciación eritropoyética y se expresan a partir de la sexta semana de vida intrauterina.

Estos antígenos se presentan en una importante variedad de combinaciones (tabla 6), lo que aumenta la posibilidad de transfundir antígenos extraños diferentes de D, a un individuo que carece de los mismos, riesgo que aumenta considerablemente si el paciente es politransfundido y más aún si posee un Fenotipo Rh poco frecuente.

En estas circunstancias es la más alta la probabilidad de que se genere la producción de anticuerpos irregulares frente a antígenos ajenos al sistema inmune del receptor, lo que lleva, en muchas ocasiones, a situaciones de difícil resolución de tipo inmunohematológico al momento de recurrir a nuevas transfusiones.

Según menciona Carrit B. y colaboradores, en muchos de los casos, los antígenos implicados corresponden a aquellos que integran el

sistema Rh (DCEce)¹⁵. Coincidentemente, esta situación no es ajena a lo que a menudo advertimos en nuestra práctica diaria.

Este trabajo permitió avanzar en el servicio, con la implementación de la mejora continua un alcance total de screening de todas las unidades ingresadas al servicio por lo que se pudo mejorar y reducir el número de pruebas a la hora de transfundir.

Como una forma de disminuir la aloinmunización frente a los antígenos eritrocitarios, se ha ampliado la gama de antígenos a compatibilizar entre el donante-receptor considerando todos los antígenos del sistema Rh.

Incrementar el número de antígenos fenotipados en una población de donantes de sangre, permitiría conocer la frecuencia de estos antígenos en la población específica y confeccionar bases de datos que proporcionen unidades de glóbulos rojos con un mayor grado de compatibilidad con algún receptor en particular y, además, compatibles con el suero de personas ya aloinmunizadas frente a alguno de estos antígenos.

Los sistemas sanguíneos más relevantes en terapia transfusional son: el sistema ABO Y Rh y la detección de anticuerpos irregulares.

El proceso para obtener una unidad de sangre de un donante para ser transfundida a un paciente es complejo. Se deben cumplir muchos pasos para garantizar que la transfusión es lo más segura posible. Aunque las complicaciones graves de las transfusiones son infrecuentes, los pacientes deben ser transfundidos siguiendo las normas basadas en la evidencia.

Esto disminuiría cualquier efecto adverso y garantizaría que los productos de la sangre, los cuales son donados por voluntarios, y son costosos y a veces escasos, sean usados en forma apropiada.

15. GLOSARIO.

1- **Anticuerpos:**

Son glicoproteínas producidas por células del linaje B y células plasmáticas que se unen de manera específica a un antígeno.

2- **Antígeno:**

Moléculas que son reconocidas por los anticuerpos o por los receptores de célula T (TCR) e interactúan con ellos.

3- **Aminoácidos:**

Molécula orgánica con un grupo amino y un grupo carboxilo. Los aminoácidos más frecuentes y de mayor interés son aquellos que forman parte de las proteínas.

4- **Anemia:**

Es debido a que su sangre no está transportando suficiente oxígeno al resto de su cuerpo. Deficiencia de glóbulos rojos.

5- **Aglutinación:**

Agregado de células o partículas debido a una formación entrelazada de muchas células recubiertas de antígenos o anticuerpos.

6- **Adversos:**

Aparición inesperada y perjudicial en un paciente o un sujeto debido al ingreso de una sustancia que es reconocida por el organismo como extraña.

7- **A la inmunización:**

Inmunización conseguida con un antígeno procedente de otro individuo de la misma especie.

8- **Banco de Sangre:**

Lugar dónde se recolecta la sangre, se analiza y se almacena antes de ser distribuida con fines médicos. En Francia el banco de sangre es el Establecimiento francés de sangre. Es el único banco de sangre del territorio francés. Su misión es la de recolectar sangre organizando campañas de donación de sangre en sitios fijos o en estructuras móviles. El banco de sangre se ocupa también de organizar las transfusiones sanguíneas distribuyendo los productos sanguíneos necesarios a los diferentes establecimientos médicos.

9- Concomitante:

Se aplica a cosas que van asociadas u obran conjuntamente.

10- Compatibilidad:

Se llama también prueba cruzada se mezcla el suero del receptor con una suspensión de los glóbulos del donante y se espera a que ambos den un resultado homogéneo sin grumos a fin de poder transfundir esa sangre.

11- Discrepancias:

Circunstancia de resultar diferentes o desiguales dos cosas que se comparan.

12- Donantes:

Capacidad de donar sangre en un banco de sangre a fin de utilizada posteriormente a receptores que necesiten ser transfundidos.

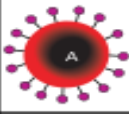
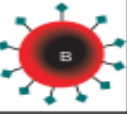
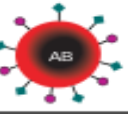

13- Fenotipo:

Conjunto de caracteres externos de un organismo que son la manifestación externa del genotipo o conjunto de genes en un determinado ambiente.

14- Grupo Sanguíneo:

es una clasificación de la sangre de acuerdo con las características presentes en la superficie de los glóbulos rojos y en el suero de la sangre. Las dos clasificaciones más importantes para describir grupos sanguíneos

en humanos son los antígenos (el sistema

	Grupo A	Grupo B	Grupo AB	Grupo O
Eritrocito				
Anticuerpos en plasma sanguíneo	Anti-B	Anti-A	Ninguno	Anti-A y Anti-B
Antígenos en los eritrocitos	Antígeno A	Antígeno B	Antígenos A y B	Ninguno

AB0)

15- Factor Rh:

Es una proteína integral de la membrana de los glóbulos rojos y que también sirve para detectar su tipo de sangre ya sea A+ o A- o los demás tipos.

Los Rh positivos son aquellas personas que presentan dicha proteína en su Rh, y negativa quienes no presenten la proteína. Un 85 % de la población tiene en esa proteína una estructura dominante, que corresponde a una determinada secuencia de aminoácidos que en lenguaje común son denominados habitualmente Rh+.

Alrededor de la sexta semana de gestación, el antígeno Rh comienza a ser expresado en los glóbulos rojos humanos.

Tener Rh- significa que se tiene la misma proteína, pero con modificaciones en ciertos aminoácidos que determinan diferencias significativas en la superficie de los glóbulos rojos, y hacen a los humanos Rh- disponer de anticuerpos (aglutininas) en el plasma que reaccionan contra los glóbulos rojos Rh+.

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

genes, de los cuales uno codifica la proteína transportadora de antígeno D y otro codifica la proteína transportadora de antígeno «C» o «c», o de «E» y «e». Las personas Rh positivas poseen genes RHD, que codifica la proteína transportadora de antígeno D y RHCE, que codifica la especificidad de la proteína transportadora de C y E. Mientras los Rh negativos tienen únicamente el gen RHCE.

16- Inmunogenicidad:

A la capacidad que tiene el sistema inmunitario de reaccionar frente a un antígeno, un estímulo bioquímico de naturaleza generalmente proteica. Cuando la inmunogenicidad es parte de la actividad farmacológica esperada, como en las vacunas, esta respuesta no se considera un efecto adverso. Sin embargo, cuando dicha inmunogenicidad no es parte de las propiedades farmacológicas del compuesto pueden aparecer reacciones inmunotóxicas que afecten tanto a la eficacia como a la seguridad del medicamento.

17- Polimorfismos:

Es una variación en la secuencia de un lugar determinado del ADN en los cromosomas (locus) entre los individuos de una población.

Aquellos polimorfismos que afectan a la secuencia codificante o reguladora y que producen cambios importantes en la estructura de la proteína o en el mecanismo de regulación de la expresión, pueden traducirse en diferentes fenotipos (por ejemplo, el color de los ojos).

18- Sensibilizado:

Proceso por el que un organismo que ha estado en contacto con antígenos adquiere propiedades de reacción, útiles o no, unidas a la producción de anticuerpos.

19- Transfusión:

Es la transferencia de la sangre o un componente sanguíneo de una persona (donante) a otra (receptor).

20- Tipificación:

Presentar las características de [una raza, una profesión, un género, etc

16. ANEXOS.

16.1 NOTA DE CONSTANCIA DE NO REFERIR CONFLICTOS ÉTICOS.

De mi mayor consideración mediante la siguiente nota quiero dejar constancia de no referir conflictos éticos con la investigación sobre la frecuencia de fenotipo Rh en donantes de sangre. Dicha investigación tiene como fin la presentación de la tesina de grado para acceder al título de la Licenciatura en Hemoterapia e Inmunohematología, carrera cursada en la Universidad de Concepción del Uruguay, sede Rosario (Sta. Fe).

Desde ya muchas gracias.

Atentamente.

.....

16.2 LIBRO DE DONANTE.

GRAFICO N° 6: Inserto reactivo CDE/ce.

Fuente: Inserto del reactivo.

MANUAL DE INSTRUCCIONES **REDIAR®**

REDIAR® Slide & Tube Anti-C; REDIAR® Slide & Tube Anti-E;
REDIAR® Slide & Tube Anti-c; REDIAR® Slide & Tube Anti-e.
Suero Hemoagrupador Monoclonal Humano IgM.
Para uso diagnóstico in vitro.

INTRODUCCIÓN
El antígeno RhD fue reconocido por primera vez en 1939 por Levine y Statson. Desde entonces, más de 50 antígenos diferentes se han reconocido como parte del sistema Rh. Con excepción del C, c, E y e, muy pocos de estos antígenos o sus correspondientes anticuerpos son encontrados en el trabajo de rutina. Los antígenos Rh están controlados por una serie de loci estrechamente conectados en el cromosoma 1, siendo heredada la contribución genética de cada progenitor como haplotipo, ej. Cde, cDE, etc. Utilizados por separado, los reactivos hemoagrupadores anti-Rh pueden indicar si un individuo expresa el antígeno correspondiente, este es un procedimiento esencial en la determinación de la especificidad del anticuerpo y la selección de sangre para transfundir a un paciente con anticuerpos Rh.

Al ensayar muestras de eritrocitos con anti-D, anti-C, anti-E, anti-c y anti-e se podrá revelar el fenotipo Rh, a partir del cual puede deducirse el genotipo más probable. El conocer el genotipo paterno probable puede ayudar en el manejo de la enfermedad hemolítica del recién nacido. La información del genotipo probable puede ser útil también para establecer la especificidad del anticuerpo y en la selección de sangre para transfundir a pacientes con anticuerpos Rh. La frecuencia de los antígenos Rh varía según las poblaciones. Por lo general en la población caucásica las frecuencias son las siguientes:

Antígeno	Frecuencia
C	70%
E	30%
c	80%
e	98%

USO AL CUAL ESTÁ DESTINADO
Los reactivos monoclonales humanos IgM REDIAR Slide & Tube Anti-C, REDIAR Slide & Tube Anti-E, REDIAR Slide & Tube Anti-c y REDIAR Slide & Tube Anti-e detectan sus correspondientes antígenos en la superficie de los glóbulos rojos humanos por aglutinación directa empleando las técnicas en lámina y tubo. Estos reactivos han sido diseñados para ser utilizados por personal entrenado en técnicas serológicas en inmunohematología.

REACTIVO
El componente principal de estos reactivos se obtiene del cultivo in vitro de hibridomas humanos secretores de anticuerpos IgM contra los antígenos correspondientes.

Nombre del producto	Línea celular
REDIAR Slide & Tube Anti-C	MS-24
REDIAR Slide & Tube Anti-E	MS-80/MS-258
REDIAR Slide & Tube Anti-c	MS-33
REDIAR Slide & Tube Anti-e	MS-16/MS-21/MS-63

Estos reactivos están formulados con anticuerpos monoclonales tipo IgM en una solución buffer que contiene potenciadores químicos, la formulación incluye además azida de sodio 0.1% (w/v) y material bovino, el reactivo Anti-e contiene además material porcino. Estos productos se proveen esterilizados por filtración a 0.22 µm.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO
Estos reactivos deben ser conservados entre 2-8°C. No deben utilizarse si se observa turbidez y no deben diluirse. No utilizar más allá de su fecha de vencimiento. El almacenamiento de los productos a temperaturas incorrectas, por ejemplo, almacenar a altas temperaturas o congelaciones y descongelaciones repetidas, pueden llevar a la pérdida acelerada de la actividad de los reactivos.

PRECAUCIONES PARA EL USO Y LA ELIMINACIÓN
Los donantes humanos de las células empleadas para producir los hibridomas han sido ensayados y encontrados no reactivos para Anti-HIV, Anti-HCV, HBsAg, EBV y MAP. Ningún método conocido puede garantizar que todos los productos derivados de sangre humana estén libres de agentes infecciosos. Se debe tener cuidado en el uso y descarte del envase y su contenido. Estos reactivos contienen 0.1% (w/v) de azida sódica. La azida sódica puede ser tóxica si se ingiere y puede reaccionar con las cañerías de plomo y cobre para formar sales altamente explosivos. Si se descarta por el desagote, enjuagar con grandes volúmenes de agua para prevenir la acumulación de azidas en las cañerías. Estos reactivos son para uso profesional in vitro solamente. Estos reactivos contienen material bovino obtenido de fuentes aprobadas por la USDA libre de Encefalopatía Espongiforme Transmisible (TSEs). Estos productos deben ser descartados por inmersión en desinfectantes (overnight) a una concentración adecuada o por autoclavado.

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS
No se requiere una preparación especial del paciente/donante antes de la recolección de la muestra de sangre. Las muestras deben ser obtenidas por una técnica aséptica, recogida en un tubo con anticoagulante (EDTA, heparina o citrato), y conservada entre 2-8°C por un plazo no mayor a 7 días. Los mejores resultados se obtienen al procesar muestras frescas. Las muestras de sangre que presenten contaminación o hemólisis gruesa no deberían ser utilizadas. Las muestras obtenidas de unidades de donación de sangre podrán ser ensayadas hasta la fecha de vencimiento de dicha unidad.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO
INFORMACIÓN GENERAL
Estos reactivos han sido estandarizados para el uso mediante las técnicas recomendadas

descriptas a continuación; por lo tanto, su desempeño en el uso mediante otras técnicas no puede ser garantizado. Se recomienda especialmente al usuario confirmar si estos reactivos son adecuados antes de utilizarlos en técnicas alternativas.

Materiales y reactivos requeridos no provistos – Técnica en Lámina

- Solución Salina Isotónica.
- Láminas de vidrio
- Cronómetro

Materiales y reactivos requeridos no provistos – Técnica en Tubo

- Tubos de ensayo
- Centrífuga
- Solución Salina Isotónica
- Cronómetro
- Pipeta Pasteur
- Incubador a 37°C
- Micropipeta
- Tips

TÉCNICAS RECOMENDADAS

Técnica en Lámina

- Colocar una gota del reactivo en una lámina de vidrio limpia.
- A 1 cm. de distancia colocar una gota de sangre entera o una gota de suspensión globular al 35-50 % en solución salina isotónica.
- Mezclar la muestra y el reactivo empleando una varilla, en un área de 2 cm. de diámetro.
- Balancear la lámina sobre una fuente de luz difusa y observar macroscópicamente si existe aglutinación.
- La aglutinación en la mayoría de las muestras ocurre dentro de unos pocos segundos. Interpretar los resultados al cabo de 2 minutos.

Técnica en Tubo

- Preparar una suspensión globular al 3-5 % en solución salina isotónica.
- Colocar una gota del reactivo en tubos limpios previamente identificados.
- Agregar una gota de suspensión globular.
- Mezclar mediante una suave agitación.
- Centrifugar a 1000 g durante 20 segundos o a otra combinación adecuada de g y tiempo.
- Agitar suavemente el tubo a fin de deshacer el botón celular y observar macroscópicamente si existe aglutinación.
- Los resultados deben ser leídos inmediatamente.
- Los tubos con reacciones negativas o positivas débiles pueden ser incubados durante 5 minutos a 37°C, luego centrifugar y volver a leer.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Si se ha producido una aglutinación, la reacción es positiva y el antígeno correspondiente al reactivo utilizado está presente en la membrana de los hematíes analizados. Si no ha habido aglutinación, la reacción es negativa y el antígeno no está presente en estos hematíes.


LIMITACIONES Y RECOMENDACIONES


Si se utiliza sangre entera con bajo hematocrito se recomienda ajustar la concentración de glóbulos rojos (35-50%) antes de realizar la prueba en lámina. No es indispensable utilizar un reactivo control paralelo a los ensayos usando estos reactivos. Se recomienda el uso de un reactivo control durante el agrupamiento de glóbulos rojos de pacientes que posean autoanticuerpos, glóbulos rojos que poseen una prueba anti-globulínica positiva, niveles anormales de proteínas y glóbulos rojos de cordón. Pueden obtenerse resultados falso negativos o falso positivos debido a la contaminación de los materiales empleados en la prueba, temperatura incorrecta de incubación, almacenamiento inadecuado de los materiales, omisión del reactivo de prueba o cualquier desviación de la técnica recomendada.


En la técnica en tubo se debe tener cuidado cuando se resuspende el botón celular ya que una agitación excesiva puede disgregar las aglutinaciones débiles y producir resultados falso negativos. Es importante emplear la fuerza g y tiempo recomendados durante la centrifugación, ya que una excesiva centrifugación puede conducir a dificultades para resuspender el botón celular, mientras que una centrifugación insuficiente puede resultar en aglutinaciones que se disgregan con demasiada facilidad.


La expresión de algunos antígenos eritrocitarios puede disminuir en intensidad durante el almacenamiento, especialmente en aquellas muestras coaguladas o anticoaguladas con EDTA. Los mejores resultados se obtienen cuando se ensayan muestras frescas.


SÍMBOLOS


 Establecimiento Elaborador

 Fecha de Vencimiento

 Número de Lote

 Consultar el Manual de Instrucciones

 Producto para diagnóstico de uso in vitro

 Almacenar entre 2° - 8°C

BIBLIOGRAFÍA

1. Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom. 5th Edition 2001. The Stationary Box.
2. Daniels, G. Human Blood Groups, Blackwell Science Ltd., 1995, Chapter 5.
3. Issitt, P.D. and Anstee D.J. Applied Blood Group Serology, 4th Edition. Montgomery Scientific Publications, Miami, Florida, USA, 1998.

PRODUCTO DE DIAGNÓSTICO DE USO IN VITRO AUTORIZADO POR LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA. Certificado Nº: 6229/07.



ELABORADO POR: FELSAN S.R.L. Palpa 3811, (C1427EBG), C.A.B.A. Argentina.
Director Técnico: Roque Luis Espinosa.
Consultas Técnicas: 4554-7990/8557. Mail: laboratorio@felsan.com.ar

REV-0108

IMAGEN N°4: Reactivos CE/ce.



Fuente: Elaboración propia.

GRAFICO N°7: Inserto reactivo: Anti-D Blend.

MANUAL DE INSTRUCCIONES
REDIAR® Slide & Tube Anti-D blend.
Suero Hemoagrupador Monoclonal Humano IgM/IgG.
Para uso diagnóstico in vitro.

INTRODUCCIÓN
Descrito por primera vez en 1939, el antígeno RhD solamente es superado en importancia por los antígenos del grupo ABO. La transfusión de sangre RhD positiva a un receptor RhD negativo o la omisión de administrar anti-D profiláctico a una madre RhD negativa, puede resultar en una producción de anti-D. Por lo tanto, determinar el grupo Rh correcto es fundamental para una práctica transfusional segura. Ciertos individuos presentan una disminución cuantitativa en la expresión de su antígeno RhD, siendo clasificados como D débiles o "weak" (D_w). Otros presentan una variación cualitativa en la expresión de su antígeno RhD, siendo conocidos como D parcial. Los individuos D débil también pueden ser D parcial. La reciente disponibilidad de reactivos anti-D monoclonales IgM potentes y de alta calidad y junto con la gran importancia adquirida clínicamente por los fenotipos D parciales, especialmente por los DVI, ha dado como resultado un cambio en las políticas de pruebas para grupo RhD que hasta el momento regían. Las Normas Técnicas y Administrativas de Hemoterapia de la República Argentina recomiendan los siguientes procedimientos para pruebas de grupo RhD:
Para pruebas de grupo RhD en pacientes y embarazadas, se deben utilizar reactivos anti-D que no detecten parcialidad DVI por la técnica recomendada.
Para pruebas de grupo RhD en donantes, se deben utilizar reactivos anti-D que permitan evidenciar aquellos donantes que expresan D débil o D parcial de importancia clínica como por ejemplo DVI, para que sean clasificados como RhD positivos.

USO AL CUAL ESTÁ DESTINADO
REDIAR Slide & Tube Anti-D blend está destinado a la detección del antígeno RhD en la superficie de los glóbulos rojos humanos por aglutinación directa mediante las técnicas en lámina y tubo, salvo la parcialidad DVI y algunas variantes D débiles que son detectadas mediante la Prueba Anti-globulina Indirecta. Este reactivo detecta la mayoría de las muestras de glóbulos rojos D débiles y D parciales incluyendo la categoría DVI. Estos reactivos han sido diseñados para ser utilizados por personal entrenado en técnicas serológicas en inmunohematología.

REACTIVO
El componente principal de este reactivo se obtiene del cultivo in vitro de hibridomas humanos secretores de anticuerpos IgM/IgG contra el antígeno RhD:

Nombre del producto	Línea(s) celular(es)
REDIAR Slide & Tube Anti-D blend	TH 28/MS-26

Este reactivo está formulado con anticuerpos monoclonales humanos tipo IgM e IgG en una solución buffer que contiene potenciadores químicos, la formulación incluye además azida de sodio 0,1% (w/v) y material bovino. Este producto se provee esterilizado por filtración a 0,22 µm.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO
Este reactivo debe ser conservado entre 2-8°C. No debe utilizarse si se observa turbidez y no debe diluirse. No utilizar más allá de su fecha de vencimiento. El almacenamiento del producto a temperaturas incorrectas, por ejemplo, almacenar a altas temperaturas o congelaciones y descongelaciones repetidas, pueden llevar a la pérdida acelerada de la actividad del reactivo.

PRECAUCIONES DE USO Y DESCARTE
Los donantes humanos de las células empleadas para producir los hibridomas han sido ensayados y encontrados no reactivos para Anti-HIV, Anti-HCV, HBsAg, EBV y MAP. Ningún método conocido puede garantizar que todos los productos derivados de sangre humana estén libres de agentes infecciosos. Se debe tener cuidado en el uso y descarte del envase y su contenido. Este reactivo contiene 0,1% (w/v) de azida sódica. La azida sódica puede ser tóxica si se ingiere y puede reaccionar con las cañerías de plomo y cobre para formar sales altamente explosivas. Si se descarta por el desagote, enjuagar con grandes volúmenes de agua para prevenir la acumulación de azidas en las cañerías. Este reactivo es para uso profesional in vitro solamente. Este reactivo contiene material bovino obtenido de fuentes aprobadas por la USDA libre de Encefalopatía Espongiforme Transmisible (TSEs). Este producto debe ser descartado por inmersión en desinfectantes (overnight) a una concentración adecuada o por autoclavado.

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS
No se requiere una preparación especial del paciente/donante antes de la recolección de la muestra de sangre. Las muestras deben ser obtenidas por una técnica aséptica, recogida en un tubo con anticoagulante (EDTA, heparina o citrato), y conservada entre 2-8°C por un plazo no mayor a 7 días. Los mejores resultados se obtienen al procesar muestras frescas. Las muestras de sangre que presenten contaminación o hemólisis grosera no deberían ser utilizadas. Las muestras obtenidas de unidades de donación de sangre podían ser ensayadas hasta la fecha de vencimiento de dicha unidad.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO
INFORMACIÓN GENERAL
Este reactivo ha sido estandarizado para el uso mediante las técnicas recomendadas descritas a continuación; por lo tanto, su desempeño en el uso mediante otras técnicas no puede ser garantizado. Se recomienda especialmente al usuario confirmar si este reactivo es adecuado antes de utilizarlo en técnicas alternativas.

Materiales y reactivos requeridos no provistos – Técnica en Lámina

- Solución Salina Isotónica.
- Láminas de vidrio
- Cronómetro

Materiales y reactivos requeridos no provistos – Técnica en Tubo

- Tubos de ensayo
- Centrífuga
- Solución Salina Isotónica
- Cronómetro
- Pipeta Pasteur
- Incubador a 37°C
- Micropipeta
- Tips

Consultas técnicas: 4334-1229

REV-01/08

Fuente: Inserto reactivo.

GRAFICO N° 8: Inserto reactivo: Anti-A; Anti-B; Anti: A, B.

MANUAL DE INSTRUCCIONES
REDIAR® Slide & Tube Anti-A; REDIAR® Slide & Tube Anti-B;
REDIAR® Slide & Tube Anti-A,B.
Suero Hemoagrupador Monoclonal Murino IgM.
Para uso diagnóstico in vitro.

INTRODUCCIÓN
En el año 1900, Landsteiner descubrió que el suero de algunos individuos aglutinaba los glóbulos rojos de otros individuos y este fenómeno podría utilizarse para clasificarlos en diferentes grupos sanguíneos. Desde entonces se han reconocido cuatro grupos: A, B, AB y O, y subgrupos de A y B. El fenotipo ABO de un individuo se determina por lo general mediante reacciones de aglutinación entre los glóbulos rojos del individuo y antisueros anti-A, anti-B y anti-A,B (prueba directa). Para confirmar el agrupamiento en muestras de adultos, se puede enfrentar el suero del individuo con suspensiones de glóbulos rojos A₁ y B (prueba inversa).

USO AL CUAL ESTÁ DESTINADO
Los reactivos REDIAR Slide & Tube Anti-A, REDIAR Slide & Tube Anti-B y REDIAR Slide & Tube Anti-A,B están destinados a la determinación del grupo sanguíneo ABO en el humano por aglutinación directa mediante las técnicas en lámina y tubo.
El reactivo Anti-A es capaz de detectar los subgrupos significativos del A, incluyendo A₁, A₂, A₃ y también aglutina la mayoría de las muestras A_x.
El reactivo Anti-B derivado de la línea celular LB-2 no reconoce el antígeno "pseudob". El fenotipo B adquirido es hallado muy ocasionalmente en pacientes del grupo A y es causado por la deacetilación del antígeno A por enzimas bacterianas, particularmente aquellas asociadas a infecciones intestinales.
El reactivo Anti-A,B es capaz de detectar con mayor intensidad los subgrupos débiles de A y B. Estos reactivos han sido diseñados para ser utilizados por personal entrenado en técnicas serológicas en inmunohematología.

REACTIVO
Los principales componentes de estos reactivos son derivados de cultivos in vitro de hibridomas murinos secretores de anticuerpos IgM:

Nombre del producto	Línea(s) celular(es)
REDIAR Slide & Tube Anti-A	BIRMA-1
REDIAR Slide & Tube Anti-B	LB-2
REDIAR Slide & Tube Anti-A,B	ES-4/ES-15

Estos reactivos están formulados con anticuerpos monoclonales murinos tipo IgM en una solución buffer que contiene potenciadores químicos, la formulación incluye además azida de sodio 0.1% (w/v), material bovino y porcino. Este producto se provee esterilizado por filtración a 0.22 µm. El reactivo Anti-A está coloreado con Patent Blue Violet y el reactivo Anti-B está coloreado con Quinoline Yellow C.I. 47005.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO
Estos reactivos deben ser conservados entre 2-8°C. No deben utilizarse si se observa turbidez y no deben diluirse. No utilizar más allá de su fecha de vencimiento.
El almacenamiento de estos productos a temperaturas incorrectas, por ejemplo, almacenar a altas temperaturas o congelaciones y descongelaciones repetidas, pueden llevar a la pérdida acelerada de la actividad de los reactivos.

PRECAUCIONES PARA EL USO Y LA ELIMINACIÓN
Las líneas celulares utilizadas para producir estos reactivos son de origen murino y han sido ensayados y encontrados no reactivos para virus MAP (Mouse Antibody Production). Se debe tener cuidado en el uso y descartar del envase y su contenido.
Estos reactivos contienen 0.1% (w/v) de azida sódica. La azida sódica puede ser tóxica si se ingiere y puede reaccionar con las cañerías de plomo y cobre para formar sales altamente explosivas. Si se descarta por el desagote, enjuagar con grandes volúmenes de agua para prevenir la acumulación de azidas en las cañerías.
Estos reactivos son para uso profesional in vitro solamente.
Estos reactivos contienen material bovino y porcino obtenido de fuentes aprobadas por la USDA libre de Encefalopatía Espongiforme Transmisible (TSEs).
Estos productos deben ser descartados por inmersión en desinfectantes (overnight) a una concentración adecuada o por autoclavado.

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS
No se requiere una preparación especial del paciente/donante antes de la recolección de la muestra de sangre. Las muestras deben ser obtenidas por una técnica aséptica, recogida en un tubo con anticoagulante (EDTA, heparina o citrato), y conservada entre 2-8°C por un plazo no mayor a 7 días. Los mejores resultados se obtienen al procesar muestras frescas. Las muestras de sangre que presenten contaminación o hemólisis gruesa no deberían ser utilizadas. Las muestras obtenidas de unidades de donación de sangre podrán ser ensayadas hasta la fecha de vencimiento de dicha unidad.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO
INFORMACIÓN GENERAL
Estos reactivos han sido estandarizados para el uso mediante las técnicas recomendadas descriptas a continuación; por lo tanto, su desempeño en el uso mediante otras técnicas no puede ser garantizado. Se recomienda especialmente al usuario confirmar si estos reactivos son adecuados antes de utilizarlos en técnicas alternativas.

Materiales y reactivos requeridos no provistos – Técnica en Lámina

- Solución Salina Isotónica.
- Láminas de vidrio
- Cronómetro

Materiales y reactivos requeridos no provistos – Técnica en Tubo

- Tubos de ensayo
- Centrifuga
- Solución Salina Isotónica
- Cronómetro

Fuente: Inserto reactivo.

GRAFICO N° 9: Inserto reactivo: Liss.

Gamma LO-ION™

Solución aditiva de baja fuerza iónica y alto peso molecular para la potenciación de la detección de anticuerpos

IVD

! Perjudicial, conservante, azida sódica al 0,1 %
No usar en caso de turbidez.

No cumple con la norma de potencia de los EE.UU.
PRECAUCIÓN: EL ENVASE DE ESTE PRODUCTO (GOTERO) PUEDE CONTENER GOMA SECA NATURAL

Immucor, Inc.
3130 Gateway Drive
Norcross, GA 30071 USA

3 0 2 4 - 3

Gamma LO-ION™

Solución aditiva de baja fuerza iónica y alto peso molecular para la potenciación de la detección de anticuerpos

IMMUCOR

USO PREVISTO: Gamma LO-ION está destinado a usarse como aditivo para potenciar la reactividad en la detección de anticuerpos en grupos sanguíneos inesperados.

RESUMEN DE LA PRUEBA: Se ha demostrado de manera concluyente que la incubación de muestras de suero o plasma y de eritrocitos en un entorno iónico reducido aumenta la velocidad a la que los anticuerpos del grupo sanguíneo se unen a sus sitios receptores de antígenos específicos en los eritrocitos [1, 2, 3, 4, 5]. La primera aplicación práctica de este principio en la detección rutinaria de anticuerpos fue informada en 1974 por Low y Messeter [6], quienes propusieron el uso de una solución de baja fuerza iónica a una molalidad óptima de cloruro sódico de 0.03, en lugar de solución fisiológica, como medio de suspensión para los eritrocitos en sistemas de detección de anticuerpos. Varios estudios [7,8,9,10,11,12] han confirmado que el procedimiento potencia las reacciones de los anticuerpos, especialmente en la fase de prueba de la antiglobulina indirecta, sin un aumento significativo en la incidencia de reacciones inespecíficas. Rosenfield [13] ha informado que la incubación a baja fuerza iónica, seguida de la incorporación de policlones, promueve la hemaglutinación directa por parte de varios anticuerpos del grupo sanguíneo, lo que facilita su detección antes de la fase de la antiglobulina indirecta.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA: El uso de Gamma LO-ION crea un entorno de baja fuerza iónica que aumenta la velocidad de absorción de los anticuerpos durante la incubación y, por lo tanto, potencia la reactividad, ya sea como hemaglutinación directa o en la prueba de la antiglobulina indirecta. Al mismo tiempo, la incorporación de compuestos de alto peso molecular aumenta la capacidad de muchos anticuerpos de producir una reacción de aglutinación directa con los eritrocitos que poseen el antígeno apropiado.

REACTIVO: Gamma LO-ION es una solución modificada de baja fuerza iónica que contiene cloruro de sodio, glicina, albúmina bovina y sustancias seleccionadas de alto peso molecular. Cuando el producto se usa de acuerdo con el procedimiento de prueba recomendado, la fuerza iónica del sistema de prueba es aproximadamente equivalente a la lograda al mezclar proporciones iguales de suero y eritrocitos suspendidos en la solución de baja fuerza iónica (LISS) propuesta por Low y Messeter [6]. Cualquier albúmina bovina utilizada en la fabricación de este producto proviene de animales donantes de origen estadounidense que han sido inspeccionados y certificados por inspectores del Servicio de Inspección y Seguridad Alimentaria del USDA como libres de enfermedades. Se considera que este producto a base de rumiantes tiene un riesgo bajo de encefalopatía espongiforme transmisible (EET). Contiene 0,1 % de azida sódica como conservante.

PRECAUCIONES:
Para uso en diagnóstico in vitro. Almacenar a una temperatura de entre 1 °C y 10 °C mientras no lo esté usando. No congelar. No diluir. No usar luego de cumplida la fecha de caducidad. Debe hacerse todo lo posible para minimizar la contaminación durante el uso del producto. No usar si se observa turbidez.

! Este reactivo contiene 0,1 % de azida sódica. Advertencia: La H302 es perjudicial si se ingiere.

Advertencia: La azida sódica puede reaccionar con las tuberías de plomo y cobre para formar azidas metálicas altamente explosivas. Si se desecha en fregaderos, enjuague con gran cantidad de agua para evitar la acumulación de la azida.

Manipule y elimine el reactivo como potencialmente infeccioso.

PRECAUCIÓN: El envase de este producto (gotero) puede contener caucho natural seco. El formato de la fecha de caducidad se expresa como CCYY-MM-DD (año-mes-día).

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS: No se requiere una preparación especial del paciente antes de la recolección de la muestra. La sangre debe extraerse mediante una técnica aseptica y el suero o el plasma deben analizarse lo antes posible. Si se produce un retraso en las pruebas, las muestras para las pruebas de compatibilidad y detección de anticuerpos deben almacenarse entre 1 °C y 10 °C. En el caso de posibles receptores de transfusiones de sangre, la muestra debe almacenarse durante un tiempo no superior al permitido por los organismos sanitarios relevantes. **NOTA:** Las valoraciones pueden realizarse mediante el procedimiento de prueba Gamma LO-ION si se desea, pero las diluciones del suero deben realizarse en suero compatible con el grupo sanguíneo. Se recomienda suero sin anticuerpos del grupo AB, pero puede usarse cualquier suero que no sea reactivo con los eritrocitos indicadores mediante el método de prueba Gamma LO-ION. En cualquier caso, se debe incluir una prueba "en blanco" que consista en el diluyente y los eritrocitos indicadores como control. La formación masiva de eritrocitos en pila de monedas puede ocurrir si las diluciones se hacen en solución fisiológica, o si los eluatos se preparan en un sustrato diferente al suero.

PROCEDIMIENTO:
Materiales incluidos: Gamma LO-ION
Materiales adicionales necesarios: Tubos de ensayo (12 x 75 mm o 10 x 75 mm pipetas); solución salina isotónica o solución salina isotónica tamponada con fosfato (aproximadamente 15 mM) con un pH de 6,5 a 7,5; baño de agua a 37 °C; incubadora; lemponzador; centrífuga; ayuda óptica, como una lente de mano, espejo cóncavo o microscopio; globulina antihumana que contenga anticuerpos anti-IgG eritrocitos sensibilizados con IgG.

METODO DE PRUEBA:
El uso de Gamma LO-ION mediante el siguiente procedimiento de prueba produce una mezcla de incubación que tiene una fuerza iónica de aproximadamente 0,1 M suponiendo que todas las gotas tienen el mismo volumen. Esto es equivalente a la fuerza iónica lograda en el procedimiento de LISS descrito por Low y Messeter [6]. Si el volumen de suero aumenta para mejorar la relación de suero y eritrocitos, la fuerza iónica de la mezcla de prueba será algo mayor a 0,1 M y la sensibilidad puede verse afectada, a menos que el volumen de Gamma LO-ION que se agrega en el paso 4 se ajuste para que corresponda al volumen de suero colocado en el tubo en el paso 2. Si las gotas de suero (paso 2) son más pequeñas en volumen que las gotas de Gamma LO-ION (paso 4), la cantidad de gotas de suero puede aumentar para compensar la diferencia. Por ejemplo, si un gotero de liraso suministra aproximadamente 20 gotas al mililitro y se agrega suero al sistema de prueba con una pipeta que suministra aproximadamente 30 gotas al mililitro, se necesitarán tres gotas de suero para lograr un volumen equivalente a dos gotas de Gamma LO-ION.

Leyenda:
Subrayado: incorporación o cambio importante. ▲: eliminación de texto

- Etiquete una cantidad adecuada de tubos de ensayo para cada suspensión de eritrocitos que se va a analizar.
- Coloque 2 gotas de suero o plasma para analizar en cada uno de los tubos.
- Agregue 1 gota de la suspensión de eritrocitos apropiada, previamente lavada y resuspendida en solución salina a aproximadamente el 3% o el 4%, a cada tubo correspondiente. Los eritrocitos reactivos se pueden usar directamente del frasco o de acuerdo con las instrucciones del fabricante. *NOTA. No suspenda los eritrocitos directamente en Gamma LO-ION, ya que el producto está diseñado para producir la fuerza iónica requerida cuando se agrega al suero y a los eritrocitos en las proporciones indicadas en estas instrucciones.*
- Agregue 2 gotas de Gamma LO-ION y mezcle bien. *NOTA. La incorporación de Gamma LO-ION se puede posponer hasta inmediatamente antes de la fase de incubación en el paso 8 de este procedimiento.*
- Centrifugue durante
 - 1 minuto a 1000 rpm (rcf 100 a 125) o
 - 15 segundos a 3400 rpm (rcf 900 a 1000) o
 - un tiempo adecuado a la calibración de la centrífuga.
- Examine para detectar hemólisis y registre si está presente.
- Vuelva a suspender los eritrocitos agitando suavemente y examine para detectar aglutinación. Registre los resultados.
- Incube los tubos a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 10 minutos. El tiempo de incubación puede extenderse hasta 30 minutos. La incubación para el límite superior del rango de tiempo puede mejorar la reactividad.
- Reprta los pasos 5 a 7.
- Lave los eritrocitos del tubo al menos 3 veces con los tubos llenos de solución salina, teniendo cuidado de decantar la solución salina entre los lavados y de volver a suspender los eritrocitos a fondo cuando agregue solución salina para el siguiente lavado. Decante la solución salina por completo después del último lavado.
- Agregue 1 o 2 gotas de globulina antihumana Gamima-clone® a cada "botón seco" de eritrocitos o siga las instrucciones del fabricante de la globulina antihumana. Agregar 2 gotas de GHA puede mejorar la reactividad.
- Mezcle bien y centrifugue como se describe en el paso 5.
- Vuelva a suspender los eritrocitos agitando suavemente y examine para detectar aglutinación. Las reacciones negativas pueden examinarse con una ayuda óptica. Registre los resultados.

Estabilidad de la reacción: La fase de lavado de la prueba de antioglobulina debe llevarse a cabo sin interrupción, y los resultados de la prueba deben interpretarse inmediatamente después de la finalización de la prueba.

CONTROL DE CALIDAD:

- Todas las pruebas negativas de antioglobulina deben confirmarse agregando eritrocitos sensibilizados con IgG, como Checkcell® y luego repitiendo la centrifugación y la lectura. Un resultado positivo de la prueba en este punto confirma que se agregó antioglobulina activa (anti-IgG) al sistema de prueba y que estuvo presente cuando la prueba de antioglobulina original se interpretó como negativa.
- Para controlar la eficacia del producto en la potenciación de la reactividad, se sugiere seleccionar un anticuerpo IgG débil (o prepararlo diluyendo uno más fuerte en suero humano inerte o equivalente) y probarlo a intervalos regulares adecuados. Puede usarse corQC® para las pruebas de control de calidad de este producto.
- Se recomienda un control autólogo (suero o plasma del paciente más eritrocitos propios) para las pruebas de identificación de anticuerpos.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LA PRUEBA: La aglutinación o la hemólisis de los eritrocitos en las fases de prueba inmediata o de incubación a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, o la aglutinación que ocurre en la fase de antioglobulina, constituyen un resultado positivo e indican que la muestra que se prueba contiene anticuerpos dirigidos a un antígeno o antígenos presentes en los eritrocitos.

La ausencia de aglutinación o hemólisis en cualquiera de las fases de la prueba constituye un resultado negativo de la prueba e indica que la muestra que se prueba no contiene anticuerpos dirigidos contra los antígenos presentes en los eritrocitos, según la determinado por este método de prueba.

Una prueba de control autólogo positivo indica la presencia de un autoanticuerpo. Se necesitarán más estudios para asegurar que los autoanticuerpos no estén también presentes en el suero.

LIMITACIONES: Como en todos los procedimientos serológicos, factores tales como materiales contaminados, tiempo de incubación inadecuado, temperatura, centrifugación, examen de aglutinación y desviación de los procedimientos de prueba recomendados pueden dar lugar a resultados falsos. Además:

- Algunos anticuerpos fríos que requieren una incubación a temperatura ambiente pueden no ser reactivos de manera óptima en las condiciones del procedimiento de prueba recomendado.
- Durante la resuspensión del botón de eritrocitos después de la centrifugación en el paso 5 y posteriormente, antes del paso 10, se puede observar una diferencia en la apariencia visual de las pruebas convencionales con solución salina o albumina. El botón de eritrocitos debe ser suave pero completamente resuspendido antes de intentar leer si hay aglutinación.
- Este producto está diseñado para usarse como un aditivo de baja fuerza iónica en pruebas serológicas que usan suero o plasma. El uso de suero diluido en solución salina, o de eluatos formados en sustratos distintos del suero, puede dar como resultado la formación de eritrocitos en pila de monedas, que podrían confundirse con aglutinación.
- El procedimiento de prueba recomendado requiere que el volumen de Gamma LO-ION utilizado en cada prueba sea igual al volumen de suero que se prueba para lograr la fuerza iónica final deseada de 0,1 M. Esta molalidad fue determinada por Low y Messeter [6] para producir una sensibilidad aceptable cuando el tiempo de incubación se acortara a cinco minutos. La desviación de estas proporciones, ya sea al usar gotas de volumen desigual o al aumentar la cantidad de gotas de suero sin un aumento correspondiente en las gotas de Gamma LO-ION, puede alterar la sensibilidad de la prueba.
- A diferencia de algunas soluciones de baja fuerza iónica (LISS), Gamma LO-ION no está diseñado como un medio de suspensión de eritrocitos, sino que debe usarse como un aditivo para mezclas de suero y eritrocitos según se detalla en las instrucciones de uso.
- No se recomienda usar Gamma LO-ION con suspensiones de eritrocitos tratadas con enzimas, excepto con la experiencia adecuada, mediante un procedimiento de prueba probado y con los controles adecuados.
- El uso de suero o plasma envejecidos puede provocar una falla en la detección de anticuerpos dependientes del complemento.

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE DESEMPEÑO: Cuando se usa de acuerdo con el procedimiento de prueba recomendado, Gamma LO-ION mejora la velocidad de asociación entre muchos anticuerpos del grupo sanguíneo y sus antígenos correspondientes, lo que permite acortar los tiempos de incubación. El producto también causa que algunos anticuerpos del grupo sanguíneo aglutinen los eritrocitos antígenicos directamente, antes de la fase de prueba de la antioglobulina. Cada lote se prueba serológicamente con anticuerpos seleccionados y con sueros inertes para asegurar un rendimiento óptimo, se mide el pH, la conductividad eléctrica y la osmolalidad para mantener la coherencia de un lote a otro. El desempeño de este producto depende del cumplimiento de los métodos recomendados que se encuentran en este prospecto.

Para obtener información adicional o asistencia técnica, comuníquese con Immucor al 855-IMMUCOR (466-8267).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- Walsh RJ. The effect of electrolytes on the Rh agglutination reaction. *Med J Aust* 1948; 793.
- Atchley WA, Bhagavan NV, Masouredis SP. Effect of ionic strength on the reaction between anti-D and D-positive red cells. *J Immunol* 1964; 93:701.
- Elliot M, Bossom W, Dupuy ME, Masouredis SP. The effect of ionic strength on the behavior of red cell isoantibodies. *Vox Sang* 1964; 9:396.
- Hughes-Jones NC, Gardner B, Telford R. The effect of ionic strength on the reaction between anti-D and erythrocytes. *Immunology* 1964; 7:72.
- Hughes-Jones NC, Polley MJ, Telford R, Gardner B, Kleinschmidt G. Optimal conditions for detecting blood group antibodies by the antioglobulin test. *Vox Sang* 1964; 9:385-395.
- Low B, Messeter L. Antioglobulin test in low ionic strength salt solution for rapid antibody screening and crossmatching. *Vox Sang* 1974; 26:53-61.
- Moore HC, Mollison PL. Use of a low ionic strength medium in manual tests for antibody detection. *Transfusion* 1976; 16:291-306.
- Austin R. An evaluation of a rapid Coombs technique. *NZ J Med Lab Tech* 1976; 30:51.
- Wicker B, Wallas CH. A comparison of a low ionic strength saline medium with routine methods for antibody identifications. *Transfusion* 1976; 16:469-472.
- Lincoln PJ, Dodd BE. The use of low ionic strength solution (LISS) in elution experiments and in combination with papain-treated cells for the titration of various antibodies, including eluted antibody. *Vox Sang* 1978; 34:221-226.
- Rock G, Baxter A, Charron M, Jhaveri J. LISS—an effective way to increase blood utilization. *Transfusion* 1978; 18:228-232.
- Fitzsimmons JM, Morel PA. The effects of red blood cell suspending media on hemagglutination in the antioglobulin test. *Transfusion* 1979; 19:81-85.
- Rosenfield RE. Low ionic incubation and polycation aggregation ("LIP") to augment hemagglutination in test tubes. Abstracts of Volunteer Papers, 31st Annual Meeting of the American Association of Blood Banks, New Orleans November 1978.

Código de prospecto: IC3024-3

Leyenda:
 Subrayado: incorporación o cambio importante ▲ eliminación de texto

Fuente: Inserto.

IMAGEN N°5: Reactivos ABO y RH.



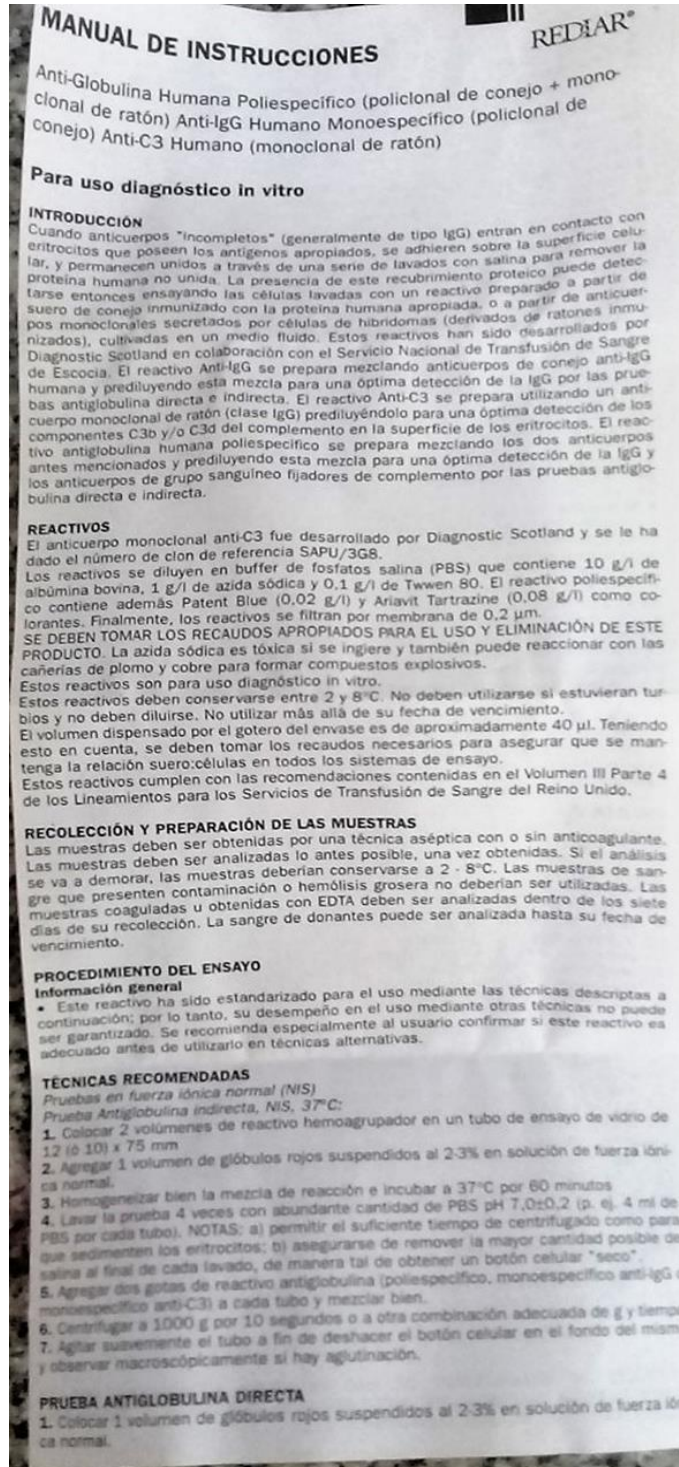
Fuente: Elaboración propia.

IMAGEN N° 6: Reactivos Liss - Coombs.



Fuente: Elaboración propia

GRAFICO N°10:Inserto reactivo Anti globulina Humana Poli especifico (Anti-IgG Anti -C3)



2. Agregar dos gotas de reactivo antiglobulina (policapécifico, monocapécifico anti-IgG o monocapécifico anti-C3) a cada tubo y mezclar bien.

3. Centrifugar a 1000 g por 10 segundos o a otra combinaci3n adecuada de g y tiempo.

4. Agitar suavemente el tubo a fin de deshacer el bot3n celular en el fondo del mismo y observar macrosc3picamente si hay aglutinaci3n.

Pruebas en baja fuerza i3nica (LIS)
Prueba Antiglobulina indirecta, LIS, 37°C:

1. Colocar 2 vol3menes de reactivo hemagrupador en un tubo de ensayo de vidrio de 12 (3 10) x 75 mm.
2. Agregar 2 vol3menes de gl3bulos rojos suspendidos al 1,5 - 2 % en LIS.
3. Homogeneizar bien la mezcla de reacci3n e incubar a 37°C por 15 - 20 minutos.
4. Lavar la prueba 4 veces con abundante cantidad de PBS pH 7,0±0,2 (p. ej. 4 ml de PBS por cada tubo). NOTAS: a) permitir el suficiente tiempo de centrifugado como para que sedimenten los eritrocitos; b) asegurarse de remover la mayor cantidad posible de salina al final de cada lavado, de manera tal de obtener un bot3n celular "seco".
5. Agregar dos gotas de reactivo antiglobulina (policapécifico, monocapécifico anti-IgG o monocapécifico anti-C3) a cada tubo y mezclar bien.
6. Centrifugar a 1000 g por 10 segundos o a otra combinaci3n adecuada de g y tiempo.
7. Agitar suavemente el tubo a fin de deshacer el bot3n celular en el fondo del mismo y observar macrosc3picamente si hay aglutinaci3n.

NOTAS ADICIONALES

- Cada serie de pruebas, antiglobulinicas deberian incluir un control positivo (de sensibilidad apropiado, p. ej. c3lulas R1r sensibilizadas con un anti-Rh (D) d3bil, para confirmar los resultados negativos de la prueba. Las pruebas en las cuales se obtuvieran resultados negativos por este procedimiento deberian considerarse inválidas y ser repetidas de ser necesario.
- La inclusi3n del colorante verde en el reactivo policapécifico no es un sustituto del control anterior. La presencia de la coloraci3n solamente indica que el reactivo fue agregado a la prueba, pero no proporciona ning3n informaci3n sobre la actividad del reactivo antiglobulina.
- El lavado es m3s efectivo con aproximadamente 4 ciclos de 4 ml de PBS por tubo.
- Cualquier resto de PBS presente luego de la serie de lavados puede diluir el reactivo antiglobulina m3s all3 de su concentraci3n 3ptima de funcionamiento. Por ende, es importante asegurarse de remover la mayor cantidad de l3quido de lavado luego de cada paso del mismo.
- Si se utilizan lavadores autom3ticos de c3lulas, el funcionamiento y la limpieza de los mismos deben ser verificados frecuentemente.
- Las pruebas antiglobulinicas directas deben llevarse a cabo con c3lulas frescas obtenidas con EDTA para evitar la sensibilizaci3n in vitro con complemento. Si se obtuviera un resultado positivo en una prueba antiglobulinica directa, se puede establecer la especificidad ensayando con reactivos monocapécificos anti-IgG y anti-C3.
- La sensibilidad de la reacci3n del complemento con el reactivo anti-complemento se puede incrementar incubando 5 minutos a temperatura ambiente antes de centrifugar.
- Los eritrocitos positivos en una prueba antiglobulinica directa no deben utilizarse para una prueba antiglobulinica indirecta.
- Las pruebas deben ser leidas por un procedimiento de balanceo y rotaci3n. Una agitaci3n excesiva puede disgregar aglutinaciones d3biles y producir resultados falso negativos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Moreschi C. Neue tatsachen uber die blutkorperchen agglutinationen. Zbl Bakt 1908; 46: 49, 456.
2. Coombs RRA, Mourant AE, Race RR. Detection of weak and incomplete Rh agglutinins: a new test. Lancet 1945;ii:15.
3. Coombs RRA, Mourant AE, Race RR. A new test for the detection of weak and "incomplete" antibodies. Brit J Exp Pathol 1945; 26:255.
4. Garratty G, Petz LD. The significance of red cell bound complement components in the development of standards and quality assurance for the anti-complement components of antiglobulin sera. Transfusion 1976; 19:688-694.
5. Howell P, Giles CM. A detailed serological study of five anti-JK sera reacting by the antiglobulin technique. Vox Sang 1983; 45: 129-138.
6. ISBT/ICSH Working Party. International reference polyspecific antihuman globulin reagents. Vox Sang 1987; 53: 241-247.
7. Issitt PD Applied blood group serology. 3rd edition. Miami: Montgomery Scientific, 1985.
8. Lachman PJ, Pangburn MK, Oldroyd RG. Breakdown of C3 after complement activation. J Exp Med 1982; 156: 205-216.
9. Moore BPL. Serological and immunological methods of the Canadian Red Cross Blood Transfusion Service. 8th edition. Toronto: Hunter Rose, 1980.
10. Voak D, Downie DM, Moore BPL et al. Quality control of anti-human globulin test: use of replicate test to improve performance. Bio Bull 1986; 1: 41-52.
11. Wright MS, Issitt PD. Anticomplement and the indirect antiglobulin test. Transfusion 1979; 19: 688-694.
12. Walker RH, ed. Technical manual. 11 th edition. Bethesda: American Association of Blood Banks, 1993.

ELABORADO POR: Alba Bioscience Ellen's Glen Road
Edinburgh, EH17 7QT, Escocia

IMPORTADO Y FRACCIONADO POR: FELSAN S.R.L. Palpa 3811,
(C1427EBG) Ciudad Aut. de Bs. As. Argentina.
Dir. T3cnico: Roque Luis Espinosa.
Consultas T3cnicas: 011-4554-7990 laboratorio@felsan.com.ar

RODUCTO DE DIAGN3STICO DE USO IN VITRO AUTORIZADO POR LA ADMINISTRACI3N NACIONAL DE MEDICAMENTOS ALIMENTOS Y TECNOLOGIA MEDICA. Certificado N3 4866. Disposici3n N3 3715

Fuente: Elaboraci3n propia.

17. INTERVENCIONES.

- ❖ Organizar una charla dirigida al grupo de personal de salud en general, médicos, enfermeros, mucamas, porteros, administrativos y personas que concurren al hospital con el fin de hacer tener un conocimiento de la donación de sangre.
- ❖ Efectuar talleres y charlas en la ciudad de Ramallo que este en abiertos a la comunidad y que traten acerca de la prevención y el tratamiento de anemias y hemorragias.
- ❖ Realizar campañas a través de los medios de comunicación.
- ❖ Llevar a cabo investigaciones en las que se evalúe la frecuencia de antígenos frecuentes en población para hacer un banco específico de la población ante una emergencia o catástrofe.
- ❖ Alentar a la población a la donación de sangre con frecuencia.

18. BIBLIOGRAFIA.

- 1-Withlock S. Immunohematology for Medical Laboratory technicians. Washington: Delmar, Cengage learning; 2010. p.292
- 2- International Society of Blood Transfusion. (homepage on the internet) Committee on terminology for red cell surface antigens. (Citado 2014, Oct 27) Disponible en: <http://ibgri.blood.co.uk/ISBT%20Pages/ISBT%20Terminology%20Pages/Terminology%20Home%20Page.htm>
- 3-Vásquez M, Maldonado M. Sistemas sanguíneos eritrocitarios de importancia clínica. Talca: Universidad de Talca;2013. p.110.
- 4- Murphy MF, Stanworth SJ, Yazer M. Transfusion practice and safety: current status and possibilities for improvement. Vox Sang. 2011; 100:46–59.
- 5- Ministerio de Salud de Chile. Orientaciones para Centros de Sangre y Unidades de Medicina Transfusional; 2007. p. 206
- 6-Race RR, Sanger R. Blood groups in man.6 th ed.Oxford: Blackwell,1975.
- 7- Levine P,Burnham L,Katzin WM, Vogel P. The role of isoimmunization in the pathogenesis of erythroblastosis fetalis.Am J Obstet Gynecol 1941;1941;42:925-7.
- 8-Rosenfeld R. Who discovered Rh A personal glimpse of the Levine-Wiener argument. Transfusion 1989; 29:55-7.
- 9-Mollison PL, Hughes-Jones NC, Lindsay M, Wessely J. Suppreson of primary RH immunization by passively-administered antibody. Experiments in volunteers. Ox Sang 1969; 16:421-9.
- 10-Freda V Gorman J, Pollack W. Rh factor: Prevention of isoimmunization and clinical trials in mothers. Science 1966; 151:828-0.
- 11-Tippett P.A Spelative model for the Rh blood group. Ann Hum Genet 1986;50 (Pt): 241-7.
- 12-Manual técnico de la AABB 1° ed Bethesda. 2004.
- 13-Baptista Gonzalez, H. Actualidades en el sistema Rh-Hr.Gac.Méd.Mex.vol.140, (), México,2004.
- 14-Hyland,C.A;Wolter,L.C; Saul,A.Three Unrelated Rh D Gene Polymorphisms Identified Among Blood Donors with Rhesus CCee(r´r´) Phenotypes.Blood,vol.84,Nº 1(july I),1994,21-24.
- 15-Wagner,F; Frohmajer, A,Flegel, W.A.RHD positive haplotypes in D negative Europeans.BMC Genetics,2001,2:10.
- 16-Moore,S;Green, C.The identification of specific Rhesus-polypeptide-blood-group-ABH-active-glycoprotein.Biochem,J, 1987,244,75-741.

17-Baptista González, H.El Sistema Rh,una mirada a fondo.Rev.Méd.Inst.Mex.Seguro Soc;4 (1),México,2005:-8.

18-Carrit,B; Kemp,T.J; Poulter,M.Evolution of the humanun Rh(Rhesus) blood group genes: a 50 years old prediction(partially) flfided.Humanan Molecular Genetic,vol 6,1997,843-850.