



UNIVERSIDAD  
NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
NICARAGUA,  
MANAGUA  
UNAN-MANAGUA

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA, MANAGUA**

**UNAN – MANAGUA**

**FACULTAD REGIONAL MULTIDISCIPLINARIA DE CARAZO**

**FAREM – CARAZO**

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS, TECNOLOGÍA Y SALUD**

**CARRERA BIOANÁLISIS CLÍNICO**

*“Año del Bicentenario de la independencia de Centroamérica.”*

**SEMINARIO DE GRADUACION PARA OPTAR A LICENCIATURA EN  
BIOANALISIS CLINICO**

**Tema**

**ENFERMEDAD HEMOLÍTICA DEL RECIÉN NACIDO POR INCOMPATIBILIDAD  
ABO.**

**Autores:**

- |                                     |           |          |
|-------------------------------------|-----------|----------|
| • Br. Cruz Aburto María José        | Nº Carnet | 16093368 |
| • Br. Téllez Alemán Norwin Santiago | Nº Carnet | 14092543 |
| • Br. López Cruz Emily Junieth      | Nº Carnet | 16093346 |

**Tutora:**

Lic. Karla Vanessa Sieza Camacho

Bioanálisis clínico

Jinotepe, 2021

**Tema General:**

Aplicación del Diagnóstico Inmunohematológico.

**Tema Delimitado:**

Enfermedad Hemolítica del Recién nacido por Incompatibilidad ABO.

## **Dedicatoria**

i

Dedicamos esta investigación primeramente al creador del universo Dios, por su infinita bondad y amor, por haber tenido misericordia a lo largo de los años con nuestras vidas y permitirnos llegar tan lejos tomado de su mano.

A nuestras madres por ser el pilar fundamental de nuestras vidas, por habernos brindado su apoyo incondicional, por ser el sustento a lo largo de nuestras vidas y valores inculcados que nos han permitido ser personas de bien.

A nuestros hermanos y familiares que nos han brindado su apoyo de manera incondicional. Y por último, pero no menos importante a nuestros maestros por brindarnos sus conocimientos a lo largo de nuestra carreras.

***Br. María José Cruz Aburto***

***Br. Emily Junieth López Cruz***

***Br. Norwin Santiago Téllez Alemán***

## **Agradecimiento**

Dios tu amor y tu bondad no tiene fin. “Por tanto os digo, que todo lo que pidieréis orando, creed que lo recibiréis y os vendrá”.

Agradezco en primer lugar a nuestro Dios y padre, por estar con nosotros siempre y no abandonarnos, por brindarnos entendimiento y sabiduría en el transcurso de nuestra formación, por la fuerza y la fe de creer lo que nos parecía imposible culminar, dando fe de que sus planes simplemente son perfectos.

A nuestra madre por ser el pilar fundamental, por sus sabios consejos, sus valores pero más que nada por su amor. Por enseñarnos que todo en la vida se puede lograr con mucho esfuerzo y dedicación.

A mis hermanos que siempre han creído en mí, y a todas aquellas personas que me motivaban con palabras de aliento.

Con mucho cariño, gracias por todo.

***Br. María José Cruz Aburto***

***Br. Emily Junieth López Cruz***

***Br. Norwin Santiago Téllez Alemán***

## Valoración del docente/AVAL

Enfermedad hemolítica del Recién Nacido se trata de una anemia hemolítica del feto o del recién nacido, causada por transmisión transplacentaria de anticuerpos específicos de la madre contra la membrana eritrocitaria fetal generalmente secundaria a una incompatibilidad entre el grupo sanguíneo de la madre y el del feto. Cuando los glóbulos rojos fetales cruzan la placenta pueden estimular la producción de anticuerpos maternos contra aquellos antígenos fetales no heredados de la madre y considerados, por lo tanto, como extraños.

Las manifestaciones clínicas más importantes son anemia, ictericia y hepatoesplenomegalia, la sobrecarga de bilirrubina circulante puede producir desde cuadros leves hasta la forma más grave de encefalopatía bilirrubínica (Kernícterus). Para el manejo de esta enfermedad, se cuenta con procedimientos diagnósticos y terapéuticos muy variados, entre los cuales se destacan la espectrofotometría del líquido amniótico, las transfusiones intrauterinas y las exanguinotransfusiones. En algunos países la aloinmunización sistemática de las madres Rh (-) ha producido una disminución de la incidencia a cerca del 1%. Existen 2 maneras en las que la sangre del feto y de la madre puede no ser compatibles.

- A, B, AB y O son los 4 tipos sanguíneos principales. Este es el tipo más común de incompatibilidad. En la mayoría de los casos, esto no es muy grave.
- Si la madre es Rh-negativo y el bebé en el útero tiene células Rh-positivo. Cuando esta forma sucede, puede causar anemia grave en el bebé. Se puede prevenir en la mayoría de los casos.

Por esta razón el presente trabajo de seminario de graduación con el tema: **Enfermedad hemolítica del recién nacido por incompatibilidad ABO.**

### Autores:

- |                                     |           |          |
|-------------------------------------|-----------|----------|
| • Br. Cruz Aburto María José        | N° Carnet | 16093368 |
| • Br. López cruz Emily Junieth      | N° Carnet | 14092543 |
| • Br. Téllez Alemán Norwin Santiago | N° Carnet | 16093346 |

Siendo de gran soporte como guía clínica para la carrera y estudiantes de Bioanálisis clínicos y otros profesionales de la salud que quieran abordar sobre este tema, por lo que considero que reúne los requisitos metodológicos, científicos y de contenido, necesarios para su defensa para optar al título de Licenciado en Bioanálisis Clínico.

---

**Lic. Karla Vanessa Sieza Camacho**  
**Tutor.**  
**Docente de Licenciatura Bioanálisis Clínico.**  
**Departamento de Ciencias, Tecnología y Salud.**

## Resumen

La Enfermedad Hemolítica del Recién nacido (EHRN) también conocida como Eritroblastosis fetal o Enfermedad Hemolítica Perinatal, es una situación patológica aloinmune, que afecta a todos los países del mundo. La Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido por incompatibilidad de grupo sanguíneo ABO es la más frecuente y de menor gravedad, en tanto que la producida por el sistema Rhesus es de menor frecuencia. Esta investigación documental se realizó con el objetivo de Describir el Diagnóstico de la Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido por incompatibilidad ABO. Utilizamos diversas citas bibliográficas, revistas médicas, consultas a diversos especialistas en esta enfermedad.

Los resultados obtenidos para llegar a describir el diagnóstico Inmunoematológico fueron conocer las diferentes patologías que produce esta enfermedad entre las cuales podemos mencionar el kernicterus, Hidropesía fetal, anemia, hiperbilirrubinemia, de igual forma conocer los diferentes grupos sanguíneos que ayudan a que se presente esta patología en los recién nacidos en los cuales podemos mencionar el sistema de grupos sanguíneo ABO, sistema Rhesus, al igual llegar a conocer las diferentes técnicas de análisis para la identificación de esta enfermedad las cuales podemos mencionar: identificación de grupos sanguíneos, Coombs directo, Coombs indirecto, prueba cruzada mayor, entre otras y conocer el diagnóstico y tratamiento para combatir esta patología tanto en la madre como en los recién nacidos. Por lo cual podemos mencionar el tratamiento postnatal y prenatal, lo cual incluye: transfusión intrauterina, fototerapia, exanguinotransfusión entre otras.

A manera de nuestros conocimientos podemos recomendar: instruir permanentemente a mujeres Rh negativas sobre la importancia de la gamma globulina anti-D. A todas las mujeres en edad fértil realizarse todos sus controles prenatales para evitar sensibilización por anticuerpos y continuar con el seguimiento en estudios sobre la Enfermedad Hemolítica del recién nacido.

## Tabla de contenido

<b>Dedicatoria</b> .....	<b>i</b>
<b>Agradecimiento</b> .....	<b>ii</b>
<b>Valoración del docente/AVAL</b> .....	<b>iii</b>
<b>Resumen</b> .....	<b>iv</b>
<b>I. Introducción</b> .....	<b>1</b>
<b>II. Justificación.</b> .....	<b>2</b>
<b>III. Objetivos</b> .....	<b>3</b>
<b>3.1 Objetivo general:</b> .....	<b>3</b>
<b>3.2 Objetivos específicos:</b> .....	<b>3</b>
<b>IV. Desarrollo del subtema</b> .....	<b>4</b>
<b>4.1 Enfermedad hemolítica del recién nacido</b> .....	<b>4</b>
<b>4.1.1 Historia de la enfermedad</b> .....	<b>4</b>
<b>4.1.2 Definición</b> .....	<b>5</b>
<b>4.1.3 Etiopatogenia de la EHRN</b> .....	<b>5</b>
<b>4.1.4 Hallazgos serológico en la Madre</b> .....	<b>6</b>
<b>4.1.5 Hallazgos serológicos en el niño</b> .....	<b>6</b>
<b>4.1.6 Hallazgos hematológicos</b> .....	<b>6</b>
<b>4.2 Manifestaciones clínicas de la enfermedad Hemolítica del Recién nacido</b> .....	<b>7</b>
<b>4.2.1 Manifestaciones clínicas durante el periodo de gestación</b> .....	<b>7</b>

4.2.2 Manifestaciones clínicas después Del parto.....	8
4.3 Sistema del grupo sanguíneo .....	11
4.3.1 Sistema ABO .....	11
4.3.2 Genética Del Sistema ABO .....	11
4.3.3 Estructura del sistema.....	12
4.3.4 Sub grupos de A y B .....	13
4.3.5 Anticuerpos del sistema ABO .....	13
4.3.6 Sistema Rhesus.....	14
4.3.7 Genética del sistema Rh .....	15
4.3.8 Antígeno D débil .....	16
4.3.9 Hematíes con delección Rh (-D-) y Rh nulo .....	16
4.3.10 Anticuerpos del sistema Rhesus .....	17
4.4 Incompatibilidad sanguínea .....	17
4.4.1 Incompatibilidad ABO .....	17
4.4.2 Incompatibilidad RH.....	18
4.4.3 Incompatibilidad por otros grupos .....	18
4.5 Diagnóstico de la enfermedad hemolítica.....	18
4.5.1 Pruebas hematológicas .....	19
4.5.2 Pruebas inmunohematológica .....	20
4.5.3 Pruebas químicas .....	21



<b>4.6 Técnicas empleada para el análisis de la enfermedad.</b> .....	22
<b>4.7 Tratamiento</b> .....	64
<b>4.7.1 Transfusión uterina</b> .....	64
<b>4.7.2 Fototerapia</b> .....	64
<b>4.7.3 Exanguinotransfusión</b> .....	65
<b>4.8 Relación médico bioanalista</b> .....	66
<b>V. Metodología</b> .....	67
<b>5.1 Tipo de investigación</b> .....	67
<b>5.2 Área de estudio</b> .....	67
<b>5.3 Técnicas e instrumentos de recolección de información.</b> .....	67
<b>5.4 Procesamiento de la información y análisis</b> .....	67
<b>5.5 Consideraciones éticas.</b> .....	68
<b>5.6 Procesamiento del análisis de la entrevista</b> .....	68
<b>VI. Conclusiones</b> .....	72
<b>VII. Referencias bibliográficas</b> .....	73
<b>VIII. Anexos</b> .....	76

## I. Introducción

La enfermedad hemolítica del recién nacido o Eritroblastosis fetal es una enfermedad en la que los glóbulos rojos son destruidos por los anticuerpos de la madre. La hemólisis es la degradación de los glóbulos rojos o eritrocitos. La incompatibilidad de grupo sanguíneo ABO o de factor Rh específicos contra antígenos de origen paterno presentes en las células rojas del recién nacido es la causa más frecuente de enfermedad hemolítica del recién nacido. Los recién nacidos con enfermedad hemolítica por incompatibilidad de grupo sanguíneo ABO o factor Rh requieren un adecuado manejo debido al alto riesgo de desarrollar complicaciones sobre todo neurológicas y a la gravedad de la enfermedad que se asocia a aborto, muerte fetal intrauterina, parto pre término, asfixia al nacimiento, entre otras patologías.

La incompatibilidad sanguínea materno - fetal se traduce a una expresión clínica variable cuya profilaxis es la única alternativa para su posible erradicación debería investigarse y descartarse desde la primera consulta prenatal debido a que solo un 5 – 8% reciben tratamiento dependiendo del grado de incompatibilidad y del factor responsable de la misma que puede estar dado por anticuerpos de los sistemas ABO, sistema Rh y otros grupos sanguíneo menos frecuente.

El diagnóstico de la enfermedad hemolítica del recién nacido puede efectuarse con precisión, seguridad y precozmente; por lo cual existen 2 tipos de diagnósticos: el prenatal y el postnatal. En el diagnóstico prenatal se deberá investigar los sistemas ABO y Rh de los progenitores.

En cuanto al sistema ABO: cuando la gestante es del grupo O y la pareja A o B, existen posibilidades de EHRN. En el Sistema Rh las posibilidades son: La mujer Rh negativa y esposo Rh positivo. Es la condición clásica de Levine y la causa más frecuente de EHRN.

En el diagnóstico postnatal se deberán realizar las pruebas de confirmación y pruebas de valoración de la gravedad de la EHRN las cuales serán: tipificación sanguínea, antiglobulina directa y control de bilirrubina sérica.

## **II. Justificación.**

La enfermedad hemolítica del recién nacido es una afección inmunológica auto inmunitaria en la cual la vida del hematíe esta acortada como resultado de la acción de anticuerpos materno que pasaron a través de la placenta y que son específico contra antígenos de origen paterno presente en las células rojas del recién nacido.

Esta enfermedad es un problema de salud de mucha relevancia en Nicaragua, que afecta tanto a la madre como al recién nacido, ocasionando un sin número de patologías que van desde leves y en otros casos más graves pueden ocasionar la muerte fetal y neonatal, esto debido a la incompatibilidad del grupo sanguíneo ABO y Rh.

En los diversos hospitales de Nicaragua, anualmente aumentan significativamente las mujeres que dan a luz, por lo que es de importancia tener al día las estadísticas y datos actualizados sobre la cantidad de casos que presentan esta enfermedad. Es por este motivo que se propuso el objetivo de describir el diagnóstico de la enfermedad hemolítica del recién nacido por incompatibilidad ABO mediante las pruebas de laboratorio, al igual que identificar el grupo sanguíneo y RH que presentan mayor porcentaje de incompatibilidad. Especificar las técnicas empleadas para el análisis de la enfermedad e enumerar sus manifestaciones clínicas y describir los criterios de manejo y profilaxis en el diagnóstico de la enfermedad hemolítica del recién nacido.

Dicha investigación permitirá conocer la situación actual de esta enfermedad, de tal forma realizamos una visita a especialistas en el tema, para relacionar las problemáticas conforme a la enfermedad hemolítica del recién nacido, con el objetivo de obtener un mayor control y mayor información de esta enfermedad, con el fin de ayudar a futuros estudiantes de la carrera de la salud y otras personas interesadas en la problemática.

### **III. Objetivos**

#### **3.1 Objetivo general:**

1. Describir el diagnóstico de la enfermedad hemolítica del recién nacido por incompatibilidad ABO mediante las pruebas de laboratorio.

#### **3.2 Objetivos específicos:**

1. Identificar el grupo sanguíneo y Rh que presenta mayor porcentaje de incompatibilidad en la enfermedad hemolítica del recién nacido.
2. Enumerar las manifestaciones clínicas de la enfermedad hemolítica del recién nacido.
3. Especificar las técnicas empleadas para el análisis de la enfermedad hemolítica del recién nacido.
4. Describir los criterios de manejo y profilaxis en el diagnóstico de la enfermedad hemolítica del recién nacido.
5. Relacionar las opiniones del personal de salud conocedor del tema.

## **IV. Desarrollo del subtema**

### **4.1 Enfermedad hemolítica del recién nacido**

La enfermedad hemolítica del feto y del recién nacido, actualmente conocida con otros nombres, entre ellos: (eritroblastosis fetal, enfermedad perinatal, igualmente Anemia hemolítica del recién nacido) es una afección inmunológica aloinmune, en la cual la supervivencia del hematíe fetal y del recién nacido está acortada debido a la acción de anticuerpos maternos que pasan a través de la placenta y que son específicos contra antígenos de origen paterno presentes en las células rojas fetales y del recién nacido

#### **4.1.1 Historia de la enfermedad**

En 1609, la partera Louyse Bourgeois, describió en la prensa laica francesa el nacimiento de gemelos. El primero, fue una niña hidrópica que murió a las pocas horas del nacimiento. El segundo gemelo fue un niño, que nació bien, pero en las primeras horas de vida presentó un íctero intenso y en posición de opistótonos falleció. Otros casos similares fueron descritos, hasta que en 1882, Ballantyne los reunió en una entidad nosológica denominada Hidrops foetalis universalis. En 1932, Diamond, Blackfan y Batty unificaron todos estos síndromes en una entidad que llamaron Eritroblastosis fetal. (Alvaro Insunza F., 2011)

En 1939, Levine y Stetson reportaron una reacción pos transfusional en una mujer después del parto de un niño hidrópico. La madre presentó una hemorragia posparto y fue transfundida con sangre de su esposo. Levine demostró que la paciente tenía un anticuerpo que aglutinaba las células del esposo y postuló que se había inmunizado contra un antígeno fetal heredado del padre. En 1940, Landsteiner y Wiener determinaron el antígeno responsable y realizaron experimentos donde reportaron que el suero procedente de conejos previamente inmunizados con células rojas de monos Rhesus contenía un anticuerpo que aglutinaba el 85 % de los hematíes de sujetos caucásicos. Tales sujetos fueron llamados Rhesus positivos (Rh positivos). El 15 % restante presentaba células que no aglutinaban con este suero y a estas se les llamó Rhesus negativos (Rh negativo). Este experimento sirvió de marco a la inmunohematología moderna. Levine y otros usando el suero anti-Rh de Landsteiner y Wiener, determinaron que las pacientes reportadas en

1939 eran Rh negativas y que tenían un anticuerpo anti-Rh que aglutinaba los hematíes de sus esposos e hijos, demostrando así la etiología de la enfermedad. (Alvaro Insunza F., 2011)

Posteriormente, C. Smith denominó a esta entidad enfermedad hemolítica del feto y del recién nacido, a la que hoy en día, dada la extensión de los conocimientos sobre ella, se le denomina enfermedad hemolítica perinatal (EHPN).

Desde entonces hasta la fecha han ocurrido grandes progresos en el conocimiento de los grupos sanguíneos que han permitido precisar que la EHPN no sólo se debe a anticuerpos contra el antígeno D, sino que también están involucrados otros antígenos del sistema Rh, el sistema ABO y de otros sistemas antigénicos; con los avances científicos en el diagnóstico, profilaxis y tratamiento de esta entidad se ha logrado disminuir su incidencia y morbimortalidad.

#### **4.1.2 Definición**

La Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido es una afección inmunológica aloinmune, en la cual se produce un acortamiento de la sobrevivencia de los eritrocitos fetales y del RN por la acción de anticuerpos maternos que pasan la placenta y están dirigidos contra antígenos de origen paterno presentes en los hematíes fetales o del neonato (Torres, 2009).

#### **4.1.3 Etiopatogenia de la EHRN**

La etiopatogenia de la enfermedad hemolítica está basada en la incompatibilidad de grupo sanguíneo materno fetal, cuando los eritrocitos fetales poseen antígenos de origen paterno carentes en los glóbulos rojos de la madre, esto origina el desarrollo de una respuesta inmunitaria en la madre, y paso de anticuerpos (del tipo IgG) a través de la placenta. Estos anticuerpos se unen a la membrana del hematíe fetal y facilitan su hemólisis (excepto en la de enfermedad hemolítica del recién nacido por incompatibilidad ABO), donde los anticuerpos están preformados. (CHOQUEPATA, 2013)

Para que se produzca la enfermedad hemolítica del recién nacido es necesario:

- a) Incompatibilidad de grupo sanguíneo materno-fetal.

- b) Aloinmunización materna específica contra un determinado antígeno fetal.
- c) Paso de anticuerpos maternos al organismo fetal.
- d) Acciones derivadas de la unión de los anticuerpos maternos sobre los hematíes fetal.

#### **4.1.4 Hallazgos serológico en la Madre**

Para (herrera, 2016) al tratar el suero materno con ditiotreitól y 2 mercaptoetanol, que inactivan los Ac IgM, se puede determinar el título de IgG anti A y anti B mediante la PAI con reactivo de Coombs monoespecífico anti IgG (título >512).

#### **4.1.5 Hallazgos serológicos en el niño**

El mismo autor refiere que la prueba antiglobulina directa (PAD) es variable, puede ser positiva, o negativa aún en casos de enfermedad hemolítica severa. Existen pocas moléculas de IgG anti A y anti B sensibilizando los eritrocitos del recién nacido. Separación de anticuerpos anti-A/B de los eritrocitos del recién nacido Auto aglutinación. (herrera, 2016)

#### **4.1.6 Hallazgos hematológicos**

Sigue afirmando que existe un incremento de los reticulocitos y los valores pueden variar entre 10 y hasta el 30 %, como evidencia de un proceso hemolítico compensado.

En relación con el recuento de eritroblastos, se citan cifras variables, entre 8 y 15 %.

La presencia de microesferocitosis (80 %) es igualmente un hallazgo prominente en los extendidos de sangre periférica, se observan cambios en la curva de fragilidad osmótica, los cuales pueden persistir hasta 2 o 3 semanas después del nacimiento. (herrera, 2016)

## **4.2 Manifestaciones clínicas de la enfermedad Hemolítica del Recién nacido**

Asegura que la aparición de la Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido puede ser precoz, a partir del cuarto mes de gestación, o bien tardía presentándose próxima al parto. La aparición tardía es la más común y es representa alrededor del 70 – 80% de los casos.

El mismo autor refiere que las manifestaciones clínicas de la EHRN son el resultado del grado de hemolisis y de producción compensatoria de eritrocitos del feto, mientras más intensa es la reacción, más grave son las manifestaciones clínicas y mayor el daño del Sistema Nervioso Central causado por hiperbilirrubinemia. (Rodriguez, Hernandez 2004 citado por Lara Marlon, 2017)

Las manifestaciones clínicas se clasifican según el periodo en el que se presentan:

### **4.2.1 Manifestaciones clínicas durante el periodo de gestación**

Sigue afirmando que la aparición de la Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido puede ser precoz, cuando se presenta en el cuarto mes de gestación, o tardía, próxima al parto. La aparición precoz da lugar a formas clínicas muy graves caracterizándose la hidropesía fetal por anasarca feto placentario intrauterino, con pérdida del feto por aborto o parto prematuro de un feto muerto o que fallece poco después del parto. La aparición tardía es la forma más frecuente. Puede evolucionar en forma leve o moderada, esto dependerá de la concentración del aloanticuerpo y de la capacidad que tenga el feto de para responder a la hemólisis sin que se produzcan complicaciones graves. El 30% de los casos de EHRN presentan un cuadro caracterizado por un síndrome hemolítico con anemia intensa, esta anemia se genera producto del retiro de circulación de los glóbulos rojos sensibilizados con anticuerpos maternos, por parte del sistema fagocítico mononuclear (SFM) del feto. La tasa de destrucción de los eritrocitos depende del título de anticuerpos, la especificidad de este y la cantidad de determinantes antigénicos que haya en cada glóbulo rojo. Este cuadro provoca una estimulación a nivel de médula ósea para aumentar la tasa de producción de eritrocitos, lo que induce que se liberen células inmaduras a la circulación (blastos). (Rodriguez, Hernandez 2004 citado por Lara Marlon, 2017)



- ❖ Hepatomegalia y esplenomegalia
- ❖ Hidropesía fetal que conlleva la muerte uterina
- ❖ Ictericia
- ❖ Anemia grave o leve.

#### **4.2.2 Manifestaciones clínicas después Del parto**

Continua afirmando que la hemólisis de los eritrocitos puede persistir después del nacimiento, ya que los anticuerpos maternos permanecen en circulación del recién nacido por veinticinco días aproximadamente después del nacimiento, lo que corresponde a la vida media de la IgG. Otro problema es la hiperbilirrubinemia la cual se presenta a causa de la hemólisis eritrocitaria, donde se libera hemoglobina la cual se metaboliza a bilirrubina. Durante la gestación esto no es problema ya que su forma no conjugada es transportada a través de la placenta para ser conjugada en el hígado materno para luego ser excretado por la madre, así los niveles de bilirrubina en circulación fetal y líquido amniótico, a pesar de estar elevados, no causarán complicaciones. Esto cambia después del nacimiento ya que en estos casos la bilirrubina no conjugada se acumula en la circulación fetal, debido a la inmadurez hepática en este periodo, llevando a que la conjugación de esta molécula sea ineficiente, sobre todo en niños prematuros, pudiendo atravesar la barrera hematoencefálica infiltrándose en tejido cerebral produciendo encefalopatías bilirrubínica irreversible, lo que se conoce como Kernícterus (letargia, espasticidad, periodos de apnea, convulsiones y opistótonos), que se acompaña con ictericia. Los niños que sobreviven pueden presentar secuelas graves de la enfermedad, como sordera, espasticidad, coreoatetosis, incluso deficiencia mental. (Rodriguez, Hernandez 2004 citado porLara Marlon, 2017)

- ❖ Cardiomegalia
- ❖ Hidropesía fetal
- ❖ Kernícterus
- ❖ Hepatomegalia
- ❖ Hiperbilirrubinemia o ictericia
- ❖ Anemia grave o leve.

Ictericia: La mayoría de los recién nacidos no tienen ictericia al nacer; porque toda la bilirrubina fetal es aclarada por el hígado materno. La ictericia aparece dentro de las primeras 24 horas después del nacimiento y alcanza el máximo nivel entre el 3ro y 4to día en los neonatos no tratados.

La aparición de la ictericia se debe a la incapacidad del recién nacido para excretar la bilirrubina derivada de la lisis del hematíe. Cada gramo de Hemoglobina degradada se transforma en aproximadamente 35 mg de bilirrubina. Una vez separado de la placenta, el recién nacido no es capaz de excretar una carga excesiva de bilirrubina, ya que esta se excreta en forma conjugada con ácido glucurónico, este proceso ocurre a nivel hepático dependiente de la enzima glucoroniltransferasa.

En los recién nacidos y prematuros la actividad de esta enzima es baja. Además el hígado fetal es deficiente en dos proteínas de transporte, X e Y, que son necesarias para el transporte activo de la bilirrubina en los conductos biliares. Concluyendo la ictericia es el resultado del aumento en la producción de bilirrubina secundaria a la hemólisis y suele agravarse por la inmadurez hepática. La bilirrubina indirecta es liposoluble e insoluble en agua y circula en plasma unida a la albúmina. Cuando la capacidad de unión a la albúmina es excedida comienza a aparecer bilirrubina libre en plasma, que difunde hacia los tejidos. Las membranas celulares están compuestas por una bicapa lipídica, lo cual favorece su difusión. (Rodriguez, Hernandez 2004 citado por Lara Marlon, 2017)

Anemia: El grado de anemia depende de la capacidad de la médula ósea para producir hematíes en respuesta al proceso hemolítico. Al nacer la mayoría de los recién nacidos se ven relativamente normales, con anemia mínima y discreta hepatoesplenomegalia.

Entre un 45-50% de los recién nacidos afectados no requieren tratamiento, sus cifras de Hemoglobina de cordón umbilical oscila entre 110 - 130 g/L y las cifras séricas de bilirrubina indirecta de cordón no exceden los 340  $\mu$ mol/L (200 11 mg/L). Existe un 25-30% de los recién nacidos donde la anemia es moderada y la eritropoyesis es insuficiente para mantener un adecuado nivel de Hemoglobina fetal, el icterus es severo con riesgo de Kernícterus, menos en

los tratados antes del nacimiento. Cuando la anemia es severa, aparecen fallos orgánicos severos y se desarrolla la hidropesía fetal.

Entre un 20-25% de los fetos en estas condiciones desarrolla una hidropesía fetal en el útero, un 10-12% antes de las 34 semanas de gestación y la otra mitad después de esta fecha. Un nivel bajo de hemoglobina en la sangre del cordón refleja la gravedad relativa del proceso hemolítico intrauterino. La anemia es causada por una rápida descomposición de los glóbulos rojos, una pérdida de sangre o porque la médula ósea no produce suficientes eritrocitos, si los glóbulos rojos se descomponen con rapidez excesiva los niveles de bilirrubina aumentan y la piel y el blanco del ojo del recién nacidos se vuelven amarillo causando de esta manera ictericia. La descomposición grave de los glóbulos rojos produce anemia y niveles elevados de bilirrubina. (Rodriguez, Hernandez 2004 citado porLara Marlon, 2017)

Hidropesía fetalis: se trata de un edema subcutáneo generalizado con acumulo de líquidos en cavidades.es un problema muy grave que pone en serio riesgo la vida del neonato antes y después de nacer, se caracteriza por provocar un edema grave es decir hinchazón en el feto o el recién nacido, por una cantidad excesiva de líquido amniótico que sale del torrente sanguíneo e ingresa a diversos tejidos corporales el neonato presenta un aspecto físico característico, también presenta facie voluptuoso, esta edematoso, palidez generalizada ,cuello corto ,piernas hinchadas y separadas, abdomen abultado el tórax presenta hidrotórax. (Rodriguez, Hernandez 2004 citado por Lara Marlon, 2017)

Kernícterus: se denomina “Kernícterus” o ictericia nuclear a la coloración amarilla de los ganglios basales Kern = núcleo, icterus = amarillo, producida por el depósito de pigmentación amarilla en regiones específicas del encéfalo, ocasionada por bilirrubina no conjugada libre. Es una complicación neurológica grave causada por la elevación de los niveles normales de la bilirrubina en la sangre del neonato.se debe a la acción directa de la bilirrubina indirecta libre sobre el sistema nervioso central, los recién nacidos manifiestan signos de disfunción cerebral como: letargo hipertonocidad, pueden presentarse convulsiones y arritmia respiratoria y la muerte. (Rodriguez, Hernandez 2004 citado porLara Marlon, 2017)

### **4.3 Sistema del grupo sanguíneo**

#### **4.3.1 Sistema ABO**

Fue el primero de los sistemas de grupos sanguíneos descubiertos. Es el grupo sanguíneo más importante para la selección y transfusión de sangre, consiste en tres antígenos: A, B, H y cuatro fenotipos: grupo A, B, AB y O. Los fenotipos A y B son autosómicos codominantes y se expresan en los hematíes de los grupos A, B y AB respectivamente. En cambio el fenotipo O es un fenotipo autosómico recesivo, reflejando la ausencia de un gen funcional A o B. Los individuos del grupo O expresan el antígeno H, el precursor biosintético de los antígenos A y B. (Baltodano Keyla, 2015)

El tipo de sangre de una persona depende de la presencia o ausencia de los antígenos ubicados en las membranas celulares de los eritrocitos o glóbulos rojos. Los individuos del grupo A, tienen el antígeno A en la membrana de sus glóbulos rojos; el que pertenece al grupo B, tiene el antígeno B, los del grupo AB tienen los dos antígenos el A y el B, mientras que los del grupo O carecen de ambos antígenos. Cada individuo pertenece a uno de estos grupos sanguíneos.

En el plasma de cada persona existen anticuerpos, producidos contra los antígenos no presentes en sus hematíes. De esta forma el individuo que pertenece al grupo A posee el anticuerpo B, mientras que el que pertenece al grupo B tiene anticuerpos anti A. El que pertenece al grupo O como no tiene ni antígeno A, ni el antígeno B, posee anticuerpos contra estos dos antígenos. Por el contrario el que pertenece al grupo AB, por tener ambos antígenos, no posee anticuerpos contra ellos. (Baltodano Keyla, 2015)

#### **4.3.2 Genética Del Sistema ABO**

El tipo de sangre de una persona depende de la presencia o ausencia de los antígenos ubicados en las membranas celulares de los eritrocitos o glóbulos rojos. Los individuos del grupo A, tienen el antígeno A en la membrana de sus glóbulos rojos; el que pertenece al grupo B, tiene el antígeno B, los del grupo AB tienen los dos antígenos el A y el B, mientras que los del grupo O carecen de ambos antígenos. Cada individuo pertenece a uno de estos grupos sanguíneos. En

el plasma de cada persona existen anticuerpos, producidos contra los antígenos no presentes en sus hematíes.

De esta forma el individuo que pertenece al grupo A posee el anticuerpo B, mientras que el que pertenece al grupo B tiene anticuerpos anti A. El que pertenece al grupo O como no tiene ni antígeno A, ni el antígeno B, posee anticuerpos contra estos dos antígenos. Por el contrario el que pertenece al grupo AB, por tener ambos antígenos, no posee anticuerpos contra ellos.

El gen ABO, ubicado en el cromosoma 9, posee tres alelos que son el A, el B y el O que varían de acuerdo a las sustituciones de nucleótidos, los cuales determinan la especificidad de las enzimas para las cuales codifican. El alelo A codifica para la enzima transferasa A que cataliza la adición de N-acetilgalactosamina (GalNAc) al antígeno H, generándose así el antígeno A. El alelo B codifica para la enzima transferasa B que cataliza la adición de D-galactosa (Gal) al antígeno H, generándose el antígeno B. El alelo B solo difiere del alelo A en la dirección de un nucleótido (guanina G en la posición 261), lo que tiene como consecuencia un cambio en el marco de lectura y la producción de una proteína sin actividad de transferasa. (genetico, 2012)

### **4.3.3 Estructura del sistema**

ABO Los antígenos del sistema ABO están compuestos por azúcares que protruyen de la membrana de la superficie de los eritrocitos, unidos a un componente denominado ceramida el cual se encuentran en la membrana de los eritrocitos, una serie de cuatro azúcares se une a la ceramida, a esta estructura de cuatro azúcares o sustancia precursora, se le unen otros azúcares que le dan la especificidad a cada antígeno ABO.

En la biosíntesis de los antígenos ABO es la adición de una L – fucosa a la galactosa terminal (GAL) de un precursor común (sustancia precursora) unidos a los lípidos o proteínas de membrana por la enzima alfa 1, 2fucosiltransferasa (transferasa H) dando origen al antígeno. Posteriormente se forman las determinaciones para los grupos sanguíneos A o B, por la acción de enzimas transferasas, que catalizan la adición de azúcares específicos; las transferasas A para los que tendrán grupo A y las transferasas B para los que tendrán grupos Formando así los antígenos

A y B respectivamente. En el caso de los grupos O se produce transferasa O que es inactiva, quedando el antígeno H sin modificarse. (Vega, 2017)

#### **4.3.4 Sub grupos de A y B**

Los subtipos del grupo sanguíneo ABO se denomina subgrupos y/o variantes los subgrupos de ABO se difieren por las cantidades de antígenos A, B u O (H) sobre los eritrocitos. Los más comunes son los subgrupos de A y B y de estos dos, son 16 más comunes los subgrupos de A, los dos principales subgrupos de A son: A1 Y A2, los subgrupos son clasificados por la cantidad de antígeno A, y esta cantidad disminuye en el orden A 1, A 2, A 3, A x, A y, Am, A el. Los subgrupos varían también en las diferentes poblaciones entre los grupos A1 y A2 hay diferencias cualitativas y cuantitativas la transferasa A1 es más eficiente que la transferasa A2 en convertir la sustancia H al antígeno A, EL 80% de las personas de grupo sanguíneo A o grupo AB tienen eritrocitos que son aglutinados por anti-A1, por lo tanto son clasificados como A1 o A1B, el restante 20% cuyas células son aglutinadas.

Los subgrupos de B son menos comunes y de muy baja frecuencia .se clasifican por la cantidad de antígeno B que poseen, la cual disminuyen en el siguiente orden B3, B x, B m, y B el.

#### **4.3.5 Anticuerpos del sistema ABO**

Los anticuerpos anti-A y/o anti B son producidos por individuos que carecen de los antígenos A y/o B respectivamente basado en el reconocimiento primitivo del sistema inmunológico entre lo propio y lo extraño, lo cual hace que los anticuerpos que se produzcan no sean de los antígenos correspondiente al mismo individuo y que una vez producidos perduren por toda la vida. Dichos anticuerpos son predominantemente del tipo IgM aunque también se advierten pequeñas cantidades de tipo IgG. (Lara Marlon, 2017)

El suero de personas del grupo O puede contener además de los anticuerpos anti-A y anti-B ,anticuerpos anti –AB ,que no son una mezcla de anti-A y de anti B si no que es un tercer

anticuerpo que presenta reacción cruzada con un antígeno presente en los hematíes A y B ;este antígeno es denominado complejo A ,B o antígeno C.

Los anticuerpos anti –A1, aparecen como aloanticuerpos en el suero de 1% a 2% de los individuos A2, y de 25%de los individuos A2B.en ocasiones, también se encuentra anti- A1 en el suero de individuos con otros grupos de A débiles .el anti- 17 A1 puede generar discrepancias en la tipificación ABO e incompatibilidad en pruebas cruzadas con glóbulos rojos de A1 y A1B y general mente reacciona mejor a temperaturas bajas que 37°Cpor lo que no se considera clínicamente significativo

Los anticuerpos del sistema ABO, pueden reaccionar a temperatura corporal y activar el complemento, causando una rápida destrucción intravascular de los hematíes. El anti-H puede presentarse como un anticuerpo natural en el suero de individuos A, AB, o B o bien como un aloanticuerpos en el plasma de los individuos del fenotipo Bombay .en este caso, su rango térmico es elevado, lo cual, junto con su capacidad para fijar el complemento, hace que el anticuerpo anti-H sea Clínicamente significativo; por lo tanto los individuos Bombay, sólo pueden ser transfundido con sangre de individuos pertenecientes a dicho fenotipo (Vega, 2017)

#### **4.3.6 Sistema Rhesus**

El sistema Rhesus (Rh) es complejo y está constituido por 35 a 40 o más antígenos, de los cuales cinco (D, C, E, c y e) revisten una importancia especial. El antígeno Rh D fue caracterizado en 1939 por Levine y Stetson. El antígeno recibió su nombre en 1940 cuando Lendsteiner y Wiener inmunizaron conejos con eritrocitos del mono Rhesus y dicho antisuero aglutinaba el 85% de la población Rh positivo. Sin embargo hace algunos años se observó que los pacientes Rh negativos desarrollaban anti-Rh solamente al ser inmunizados (transfusión, embarazo, etc.). (Baltodano Keyla, 2015)

La presencia de los antígenos del sistema Rh está determinada por genes, y dos teorías tratan de explicar la herencia de los antígenos Rhesus, una fue propuesta por Sir Ronald Fisher y el Dr. Robert Race de Inglaterra, según ellos los cinco determinantes antigénicos principales que integran el sistema Rh (D, C, c, E, e) son el producto de 3 pares de genes situados en 3 locus distintos, pero inmediatamente ligados. En su concepto cada gen da origen a un antígeno

determinado. Estos locus están constituidos por pares de genes alelos Dd, Cd, Ee, con transmisión codominantes. El más importante de estos locus fue denominado D, ocupado por el gen responsable del antígeno D y la otra teoría propuesta por el Dr. Alexander Wiener de EEUU, que nos dice que la herencia del sistema Rh es controlada por un gen único, localizado en un locus simple en un cromosoma.

Cada aglutinógeno se caracteriza por especificidades serológicas múltiples, denominadas factores, identificadas por anticuerpos específicos. Existen múltiples alelos de este gen y los ocho alelos mayores son denominados con los símbolos: r, r', r'', R, Ro, R1, R2, Arz. (Baltodano Keyla, 2015)

#### **4.3.7 Genética del sistema Rh**

El sistema Rh es una agrupación de varios antígenos productos de dos genes adyacentes y homólogos del brazo corto del cromosoma 1, ubicados en la región p36.13-p34.3 que codifica los poli péptidos no glucosilados, denominados RHD y RHCE. El gen RHD determina la presencia de una proteína de membrana que confiere actividad D a los glóbulos rojos, el otro gen RHCE determina los antígenos C, c, E y e; sus alelos son RHCE, RHCE, RhcE y Rhce. Los productos de estos genes son proteínas que contienen 417 aminoácidos, estos atraviesan la membrana eritrocitaria doce veces y solo exhiben ramas aminoacídicas cortas en el exterior, en la cual se expresan los respectivos antígenos, estos poli péptidos son ácidos grasos acetilados y no contienen carbohidratos. (genetico, 2012)

Los antígenos de este sistema presentan homología, su diferencia se basa en la posición de diferentes aminoácidos que hacen únicos cada antígeno; entre los antígenos C y c difieren en cuatro aminoácidos en las posiciones 16, 60 y 103 de los cuales solo la serina o prolina en la posición sería crítica, la presencia de alanina o prolina en la posición 226 parece ser la única característica que distingue a los antígenos E de los de e. Los poli péptidos D, en cambio poseen 35 aminoácidos que en los individuos D negativos se perciben como extraños.

La presencia o ausencia del gen RHD en el ADN humano determina las bases moleculares del polimorfismo RhD positivo y RhD negativo. Los individuos RhD positivos poseen los dos genes RH, mientras que el fenotipo RhD negativo resulta de la ausencia del gen RHD, estos genes son



heredados por los progenitores como carácter mendeliano y se expresan a partir de la sexta semana de vida intrauterina. (genetico, 2012)

#### **4.3.8 Antígeno D débil**

Es una variante débil del antígeno Poco frecuente entre los individuos caucásico, pero común entre los individuos de raza negra, los hematíes generalmente dan reacciones débiles o negativas con el anticuerpo anti -D, siendo detectados gracias a la prueba de antiglobulina indirecta. (Lara Marlon, 2017)

A un cuando la prueba requiere un paso adicional, estos eritrocitos deben ser considerados D positivos en el pasado se clasificaban como DU, sin embargo esta designación ya no se considera apropiada y ahora han sido clasificados como D débiles. Debido a que algunas personas con glóbulos rojos D positivos producen aloanticuerpos anti- D que no reaccionan con sus propias células, surge el concepto que postula que los antígenos D consisten en componentes múltiples 20 .los eritrocitos que carecen de parte del complejo antigénico D se denomina D “mosaicos” o D “variantes “la terminología actual más apropiada es D parcial. Es muy importante analizar la expresión débil antígeno D ya que no se recomienda transfundir sangre de este tipo a receptores D negativo, porque esos glóbulos rojos podrían desencadenar una respuesta inmunológica al antígeno D. Sin embargo la sangre con antígeno D débil parece ser menos inmunogénico que la sangre D positiva normal.

#### **4.3.9 Hematíes con delección Rh (-D-) y Rh nulo**

Los hematíes que no poseen los antígenos dependientes de los locus C y E, se dice que presentan delección (-D-). El número de lugares antigénicos D esta aumentados en estos hematíes, y por lo tanto el anti- D de tipo IgG puede aglutinarlo. Los individuos que no expresan ninguno de los antígenos del sistema Rhesus en sus hematíes, se dice que tienen Rh nulo. Los eritrocitos de estos individuos tienen alterado el transporte de Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup>. Esto da lugar a una anemia hemolítica caracterizada por estomatocitosis, esferocitosis y aumento de la fragilidad osmótica (Lara Marlon, 2017)

### 4.3.10 Anticuerpos del sistema Rhesus

Los anticuerpos del sistema Rhesus se producen en forma de anticuerpos completos (IgM o incluso IgA), a lo que es más común, como anticuerpos incompletos (IgG) siendo estimulada su producción por transfusión o embarazo, aunque ocasionalmente (anti -E y anti CW) se producen en forma natural con muy pocas excepciones, los anticuerpos Rh no fijan el complemento, debido a que la situación de los antígenos Rhesus en la membrana de los hematíes no permite la formación de dobletes del IgG necesarios para la activación del mismo, por lo tanto, en las reacciones transfusionales con anticuerpos Rh, la hemólisis es sobre todo extravascular en vez de intravascular.

El anticuerpo inmune más comúnmente encontrado es el anti -D, que puede ser detectado en la fase de antiglobulina, como así también empleados ciertos potenciadores, como los medios de baja fuerza iónica, medios coloidales (albumina bovina al 22% y polietilenglicol), medios enzimáticos o polybrenes. La mayoría de estos IgG anti - D son predominantemente IgG1, IgG3 en individuos hiperinmunizados, aunque en las embarazadas es más frecuente encontrar una sola clase de Y IgG. En sueros de pacientes que forma un anticuerpo anti -Rh distinto al anti - D, los más comúnmente encontrados son el anti - c y el anti - E. con respecto al anti - c se debe destacar que siempre es de origen inmune y es el más importante desde el punto de vista clínico luego del anti - D; en cambio el origen inmune del anti - E es raro, casi siempre es de origen natural y suele, en ocasiones, ser no detectados.

## 4.4 Incompatibilidad sanguínea

### 4.4.1 Incompatibilidad ABO

Es la causa más importante y más frecuente de eritroblastosis fetal, no obstante su evolución es benigna. Este tipo de incompatibilidad es ocasionada cuando mujeres de grupo sanguíneo "O" tienen hijos con grupos sanguíneos A o B. Los anticuerpos anti-A y anti-B inmunes de tipo IgG de la madre, son capaces de atravesar la placenta y destruir los eritrocitos fetales. Se suele diagnosticar en recién nacidos a término que no están severamente anémicos, y que desarrollan ictericia después de las primeras 24 horas de vida (Barrera Andocilla, 2014)

A diferencia de la incompatibilidad Rh, se puede presentar sin previa sensibilización pero casi nunca causa hidropesía.

#### **4.4.2 Incompatibilidad RH**

El sistema Rh es uno de los sistemas más complejos de los grupos sanguíneos, ya que comprende una amplia gama de antígenos. Hasta ahora se han descubierto alrededor de 54 (RH1 a RH61), siendo los más importantes el D, C, c, E y e; los cuales se heredan de forma dominante. (Daniels, 2013)

Estos antígenos poseen un elevado poder inmunogénico, especialmente el “D”, y los anticuerpos formados contra estos son de tipo IgG, capaces de atravesar la placenta. Estos anticuerpos tienen la característica de que no son formados antes de un primer contacto de la persona Rh D negativa con los eritrocitos Rh D positivo (proceso conocido como sensibilización). Es así, que cuando en los glóbulos rojos fetales se presentan antígenos Rh del grupo del padre que no estén presentes en los glóbulos rojos de la madre, ella puede producir anticuerpos contra estos antígenos desencadenando, en un segundo embarazo, una hemólisis acelerada y por consiguiente anemia severa con hiperbilirrubinemia que se manifiestan en el RN en las primeras 24 horas de vida.

#### **4.4.3 Incompatibilidad por otros grupos**

La incompatibilidad materno-fetal por otros grupos es rara pero también puede presentarse. El anticuerpo anti-c junto con el anti-Kell son los más frecuentes y pueden causar anemia fetal grave, ya que generalmente son de clase IgG, al igual que el anticuerpo anti-D. Sin embargo, es poco común que exista ictericia o hiperbilirrubinemia significativa por estas causas. (Fuenzalida, 2014)

#### **4.5 Diagnóstico de la enfermedad hemolítica**

Los recién nacidos que tengan eritroblastosis fetal generalmente presentan bilirrubina sérica total aumentada con predominio de la bilirrubina indirecta; la cuantificación de eritrocitos y

hemoglobina se encuentran disminuidos por la hemólisis presente; y como manera de compensación de la anemia se incrementarán los reticulocitos y eritroblastos. (Markham, 2016)

En el laboratorio clínico, la mayoría de pruebas diagnósticas miden la aglutinación formada por anticuerpos y antígenos presentes, así:

#### **4.5.1 Pruebas hematológicas**

##### **a) Biometría hemática completa**

La biometría hemática completa (BHC) es una prueba que mide la composición de la sangre: Glóbulos Rojos, Glóbulos Blancos y Plaquetas. Determina la concentración baja de hematocito y la hemoglobina en esta enfermedad. (Laboratorio clinico, imagenologia diagnostica, consulta general y banco de sangre , 2015)

##### **b) Recuento de reticulocito**

Es un análisis de sangre que mide a qué velocidad los glóbulos rojos llamados reticulocitos son producidos por la medula ósea y liberados en la sangre. Estos reticulocitos están en la sangre durante aproximadamente 2 días antes de convertirse en glóbulos rojos maduros. (Healthwise, 2020)

##### **c) Extendido periférico**

Procedimiento por el que se observa bajo un microscopio una muestra de sangre para contar los distintos tipos de células sanguíneas que circulan (glóbulos rojos, glóbulos blancos, plaquetas, etc.) (Instituto nacional del cancer , 2013)

#### **4.5.2 Pruebas inmunohematológica:**

##### **a) Grupo sanguíneo**

Landsteiner y sus colaboradores comprobaron que la sangre de todo individuo pertenece a uno de los cuatro tipos del sistema ABO, y estos se distinguen uno de otro por una reacción de aglutinación. Siendo de vital importancia identificarlo en las mujeres embarazadas, ya que pueden producir reacciones de incompatibilidad sanguínea materno-fetal. (Buelvas, 2014)

En el laboratorio clínico se utilizan dos tipos de pruebas para la determinación del grupo sanguíneo: directo, donde se ocupa como antígeno células del paciente con antisueros específicos para producir una aglutinación; e indirecto, donde se ocupa suero del paciente, es decir anticuerpos naturales que permiten la confirmación del grupo sanguíneo. (Buelvas, 2014)

##### **b) Coombs directo**

Es una de las principales pruebas realizadas a los recién nacidos para detectar aglutinación en los glóbulos rojos sensibilizados por anticuerpos maternos de tipo IgG o complemento.

Además, esta prueba se emplea en la investigación de anemias hemolíticas autoinmunes, hemólisis inducida por drogas y reacciones aloinmunes. (Cortés, 2012)

Una prueba de Coombs directo positivo puede identificar incompatibilidad ABO y Rh, y está asociada significativamente con hiperbilirrubinemia severa. (Özgönenel, 2015)

##### **c) Coombs indirecto**

Esta prueba se utiliza con la finalidad de detectar anticuerpos maternos anti-eritrocitario principalmente en la incompatibilidad Rh, para determinar si la madre se encuentra o no sensibilizada. Si el Coombs indirecto es positivo se deberá realizar la titulación de anticuerpos (Cortés, 2012)

#### **d) Titulación de anticuerpos**

La titulación de anticuerpos es importante para evitar el desarrollo de la eritroblastosis fetal en un futuro embarazo, ya que se detecta la concentración de anticuerpos presentes en el suero materno y se usa principalmente en la incompatibilidad Rh. Un título de anticuerpos anti-D entre 1:16 a 1:32 se ha asociado con el riesgo de hidropesía fetal. (Houston, 2015)

Además, para la incompatibilidad ABO se puede utilizar la prueba de mercaptoetanol por su capacidad de neutralizar a los anticuerpos de tipo IgM, y así realizar la titulación de los anticuerpos anti-A y anti-B de clase IgG. Sin embargo, ha sido reemplazado por ditiotreitól (DTT) y en varios bancos de sangre suspendido debido a labio peligrosidad del reactivo.

#### **e) Prueba cruzada mayor**

Esta prueba se utiliza con dicha finalidad de determinar la compatibilidad entre los glóbulos rojos del donante y los anticuerpos presentes en el suero del receptor. (narvaez, 2019)

#### **f) Prueba cruzada menor**

Detecta anticuerpos en el suero del donante que pueda dañar los glóbulos rojos del receptor debido a que los ACS presente en el donante se van a diluir en los volémios del receptor. El daño que pueda ocasionar es escaso o menor (narvaez, 2019)

### **4.5.3 Pruebas químicas**

#### **a) Bilirrubina**

Un bebé con ictericia tiene la piel de color amarillento o amarillo. Suele empezar por la cara, luego pasa a afectar al pecho y el abdomen y, por último, a las piernas. El blanco de los ojos del bebé también adquiere una tonalidad amarillenta.

Los bebés con una concentración muy alta de bilirrubina pueden estar adormilados, sin tono muscular y/o tener problemas para alimentarse.

Los valores normales de bilirrubina total (directa e indirecta) son de 0,3 a 1,9 mg/dl.

En los recién nacidos, los valores más elevados de bilirrubina son normales debido a la fuerza que realizan durante el parto. Los valores normales de bilirrubina en un recién nacido deberían ser inferiores a 5 mg/dl. No obstante, hasta el 60 por ciento de los recién nacidos presentan algún grado de ictericia y niveles de bilirrubina superiores a 5 mg/dl. (Case-Lo, 2010)

#### **4.6 Técnicas empleada para el análisis de la enfermedad.**

Para la determinación de la enfermedad hemolítica del recién nacido, es necesario realizar una serie de pruebas por el contrario no obtendremos un resultado confiable. Por lo cual se utilizan las siguientes técnicas empleadas para el diagnóstico EHRN.

##### **1. PREPARACIÓN DE CÉLULAS “A” (REACTIVO).**

###### **OBJETIVO:**

- Describir cómo se realiza la preparación de la solución de trabajo, de células del grupo sanguíneo A.

###### **ALCANCE:**

- Para todo el personal profesional y técnico del Servicio de Medicina Transfusional que se desempeña en el laboratorio de Inmunohematología.

**RESPONSABILIDAD:**

- Cada funcionario (profesional o técnico encargado de las actividades de laboratorio de inmunohematología del Servicio de Medicina Transfusional del hospital) será responsable del estricto cumplimiento de este procedimiento.
- Responsable del Servicio de Medicina Transfusional, será el encargado de asegurar los recursos imprescindibles para la realización de éste procedimiento.
- El Responsable de Aseguramiento de la Calidad del Servicio de Transfusión, que valiéndose de las inspecciones y auditorías controlará el cumplimiento de lo establecido en el presente POE.

**DOCUMENTOS DE REFERENCIA:**

- Estándares de Medicina Transfusional
- Manual de Procedimientos en Medicina Transfusional
- Manual AABB

**DEFINICIONES:**

- Las células A (reactivo) son suspensiones de hematíes conocidos (del grupo sanguíneo A), destinados al estudio de anticuerpos en suero o plasma.

**LOCALES, EQUIPAMIENTOS, MATERIALES, REACTIVOS E INSUMOS:**

- Local: área de laboratorio del Servicio de Medicina Transfusional



- Equipamiento: Centrífuga de mesa, Centrífuga Serofuge, Baño María y Refrigerador para reactivos.
- Materiales e insumos:
  - guantes y demás equipos de protección personal
  - tubos con muestras de sangre (glóbulos rojos del grupo sanguíneo A).
  - Pipetas pasteur.
  - Tubos 13 x 100 mm ó 12 x 75 mm.
  - Tapones de hule o Papel parafilm.
  - Pipetas pasteur,
  - Pipeta automática 1-5 ml,
  - Pipeta automática 200-1000 ul,
  - Frascos goteros de 10 ml,
  - Etiquetas.
- Reactivos:
  - Solución salina fisiológica o Solución de Preservación,
  - Reactivo Anti-A y Lectina Anti-A1.
  - Solución salina al 0.85 % pH 6.5- 7.5

#### **PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO:**

- La preparación de una solución de células de grupos sanguíneos A tiene el propósito de aportar las características antigénicas de los eritrocitos para la detección de los correspondientes anticuerpos de este grupo sanguíneo.

#### **PROCEDIMIENTO:**

- Seleccione una muestra de sangre con anticoagulante del grupo A y realizarle la prueba de Lectina Anti-A1 para verificar si la muestra es A1 (aproximadamente el 80 % de los portadores de grupo sanguíneo A poseen el A1).
  - Adicione una gota de lectina anti-A1 a tubos adecuadamente marcados.
  - Adicione una gota de una suspensión de eritrocitos bajo prueba al 4 % en solución salina.
  - Mezcle completamente el contenido del tubo.
  - Centrifugar de 15-30 minutos de 900-1000 rpm.
  - Agite suavemente el tubo y resuspenda el botón celular. Examine las reacciones resultantes macroscópicamente. Registre resultados.
- Centrifugue la muestra que ha verificado que es A1 por 5 minutos a 3400 r.p.m.
- Descarte el plasma sobrenadante con una pipeta Pasteur.
  - a. Emplear una pipeta para cada muestra y desecharlas como está establecido para el material infeccioso.
- Colocar con la ayuda de una pipeta Pasteur 1 ml de la porción de glóbulos rojos o sedimento en un tubo 13 x 100 mm (ó 12 x 75mm)
  - Completar con solución salina hasta 1 cm del borde.
  - Mezcle unas 10 veces por inversión antes de la centrifugación hasta que no se observen células adheridas al fondo del tubo.
  - Organizar los tubos en la centrífuga.
    - Los cestillos y los soportes se deben unir en parejas por el peso y equilibrar correctamente con los tubos colocados, manteniendo una disposición geométrica simétrica.
    - Para equilibrar los cestillos de las centrífugas para tubos, se recomienda hacerlo con alcohol al 70%.
    - No se recomienda emplear agua, solución salina o hipoclorito de sodio, porque el derramamiento de estos productos conlleva a la corrosión de los metales

- Centrifugar durante a 3400 rpm por 5 minutos.
- Descarte toda la solución salina usando una pipeta Pasteur para sedimentar las células
- Agregue un poco de solución salina y agite el tubo para resuspender los glóbulos rojos.
  - Esto constituye el primer lavado.
- Repetir la operación hasta completar 4 lavados.
  - En el último lavado, la solución salina debe ser clara, sin signos de hemólisis.
  - En la última lavada procurar eliminar completamente la solución salina.
- Colocar 0.4 ml del sedimento de glóbulos lavados en el frasco gotero previamente esterilizado y etiquetado, destinado para su almacenamiento.
- Agregar 9.6 ml de solución de preservación o en su defecto solución salina fisiológica.
- Separar en dos alícuotas: uno de los frascos se debe conservar como stock y el otro para trabajo diario.
- Almacenar a temperatura de 4° C mientras no se estén utilizando.
  - a. No deben dejarse a temperatura ambiente ya que las células pueden hemolizarse. (Fonseca H. A., Procedimiento de inmunohematología en medicina transfusional para preparacion de celulas A, 2011)

## **2. PREPARACIÓN DE CÉLULAS “B”.**

### **OBJETIVO:**

- Describir cómo se realiza la preparación de la solución de trabajo, de células del grupo sanguíneo B.

**ALCANCE:**

- Para todo el personal profesional y técnico del Servicio de Medicina Transfusional que se desempeña en el laboratorio de Inmunohematología.

**RESPONSABILIDAD:**

- Cada funcionario (profesional o técnico encargado de las actividades de laboratorio de inmunohematología del Servicio de Medicina Transfusional del hospital) será responsable del estricto cumplimiento de este procedimiento.
- Responsable del Servicio de Medicina Transfusional, será el encargado de asegurar los recursos imprescindibles para la realización de éste procedimiento.
- El Responsable de Aseguramiento de la Calidad del Servicio de Transfusión, que valiéndose de las inspecciones y auditorias controlará el cumplimiento de lo establecido en el presente POE.

**DOCUMENTOS DE REFERENCIA:**

- Estándares de Medicina Transfusional
- Manual de Procedimientos en Medicina Transfusional
- Manual AABB

**DEFINICIONES:**

- Las células B (reactivo) son suspensiones de hematíes conocidos (del grupo sanguíneo B), destinados al estudio de anticuerpos en suero o plasma.

**CONDICIONES DE SEGURIDAD:**

a. En los Servicios de Medicina Transfusional la muestra de sangre B debe provenir preferentemente de las tubuladuras de las unidades de sangre total o paquete globular, y no provenientes de pacientes para garantizar que se manipulen muestras que hayan sido pesquisadas para las principales infecciones de transmisión transfusional.

b. Cuando las soluciones de células B son preparadas con solución persevante la vigencia de las células puede ser de 21 días.

c. Cuando las soluciones de células B son preparadas con solución salina fisiológicas pueden ser utilizadas máximo 7 días o en el momento que presenten hemólisis.

d. La solución salina debe utilizarse, siempre que sea posible, recién preparada, aunque no es rigurosamente necesario que sea estéril, cuando se emplea como medio de suspensión de glóbulos rojos. Cuando se trabaja con glóbulos rojos, la solución salina debe tener un pH de 6,5 – 7,5, por fuera de este rango, algunos anticuerpos no se combinan con los antígenos y se obtienen resultados falsos negativos. Si el pH es adecuado y la solución salina se usa en el día no se requiere buffer, sin embargo como esta solución suele utilizarse en un lapso de 2 a 3 días, en los que declina el pH, es preciso agregar sales amortiguadoras en forma de tabletas de pH 7 o un buffer apropiado.

**LOCALES, EQUIPAMIENTOS, MATERIALES, REACTIVOS E INSUMOS:**

- Local: área de laboratorio del Servicio de Medicina Transfusional
- Equipamiento:
  - Centrífuga
  - Baño María
  - Refrigerador para reactivos.
- Materiales e insumos:

- guantes y demás equipos de protección personal
- tubos con muestras de sangre (glóbulos rojos del grupo sanguíneo B).
- Pipetas Pasteur.
- Tubos 13 x 100 mm ó 12 x 75 mm.
- Tapones de hule o Papel parafilm.
- Pipetas Pasteur,
- Pipeta automática 1-5 ml,
- Pipeta automática 200-1000 ul,
- Frascos goteros de 10 ml,
- Etiquetas.
- Reactivos:
  - Solución salina fisiológica o Solución de Preservación,
  - Reactivo Anti-B.
  - Solución salina al 0.85 % pH 6.5- 7.5

#### **PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO:**

- La preparación de una solución de células del grupo sanguíneos B tiene el propósito de aportar las características antigénicas de los eritrocitos para la detección de los correspondientes anticuerpos de esos grupos sanguíneos.

#### **PROCEDIMIENTO:**

- Seleccione una muestra de sangre de grupo B con anticoagulante.
- Centrifugue la muestra por 5 minutos a 3400 r.p.m.
- Descarte el plasma sobrenadante con una pipeta Pasteur.
  - a. Emplear una pipeta para cada muestra y desecharlas como está establecido para el material infeccioso.

- Colocar con la ayuda de una pipeta Pasteur 1 ml de la porción de glóbulos rojos o sedimento en un tubo 13 x 100 mm (ó 12 x 75mm)
- Completar con solución salina hasta 1 cm del borde.
- Mezcle unas 10 veces por inversión antes de la centrifugación hasta que no se observen células adheridas al fondo del tubo.
- Organizar los tubos en la centrífuga.
  - Los cestillos y los soportes se deben unir en parejas por el peso y equilibrar correctamente con los tubos colocados, manteniendo una disposición geométrica simétrica.
  - Para equilibrar los cestillos de las centrífugas para tubos, se recomienda hacerlo con alcohol al 70%.
  - No se recomienda emplear agua, solución salina o hipoclorito de sodio, porque el derramamiento de estos productos conlleva a la corrosión de los metales
- Centrifugar durante a 3400 rpm por 5 minutos.
- Descarte toda la solución salina usando una pipeta pasteur para sedimentar las células
- Agregue un poco de solución salina y agite el tubo para resuspender los glóbulos rojos.
- Repetir la operación hasta completar 4 lavados.
  - En el último lavado, la solución salina debe ser clara, sin signos de hemólisis.
  - Descarte siempre la salina con una pipeta Pasteur y en la última lavada procure eliminarla completamente.
- Colocar 0.4 ml del sedimento de glóbulos lavados en el frasco gotero previamente esterilizado y etiquetado, destinado para su almacenamiento.
  - Agregar 9.6 ml de solución de preservación o en su defecto solución salina fisiológica.
  - Separar en dos alícuotas: uno de los frascos se debe conservar como stock y el otro para trabajo diario.
  - Almacenar a temperatura de 4° C mientras no se estén utilizando.

No deben dejarse a temperatura ambiente ya que las células pueden hemolizarse. (Fonseca H. A., Procedimiento de inmunohematología en medicina transfusional para preparación de células B, 2011)

### **3. PREPARACIÓN DE CÉLULAS CONTROL DE COOMBS.**

#### **OBJETIVO:**

- Describir cómo se realiza la preparación de la solución de trabajo, suspensión de células para los controles Coombs.

#### **ALCANCE:**

- Para todo el personal profesional y técnico del Servicio de Medicina Transfusional que se desempeña en el laboratorio de Inmunohematología.

#### **RESPONSABILIDAD:**

- Cada funcionario (profesional o técnico encargado de las actividades de laboratorio de inmunohematología del Servicio de Medicina Transfusional del hospital) será responsable del estricto cumplimiento de este procedimiento.
- Responsable del Servicio de Medicina Transfusional, será el encargado de asegurar los recursos imprescindibles para la realización de éste procedimiento.



- El Responsable de Aseguramiento de la Calidad del Servicio de Transfusión, que valiéndose de las inspecciones y auditorias controlará el cumplimiento de lo establecido en el presente POE.

#### **DOCUMENTOS DE REFERENCIA:**

- Estándares de Medicina Transfusional
- Manual de Procedimientos en Medicina Transfusional
- Manual AABB

#### **DEFINICIONES:**

- Esta solución de trabajo tiene el propósito de sensibilizar glóbulos rojos que sirvan posteriormente para controlar la Prueba de Antiglobulina o Prueba de Coombs.

#### **LOCALES, EQUIPAMIENTOS, MATERIALES, REACTIVOS E INSUMOS:**

- Local: área de laboratorio del Servicio de Medicina Transfusional
- Equipamiento:
  - Centrífuga
  - Baño María
  - Refrigerador para reactivos.
- Materiales e insumos:
  - guantes y demás equipos de protección personal
  - tubos con muestras de sangre (Glóbulos rojos del grupo sanguíneo O).
  - Pipetas pasteur.
  - Tubos 13 x 100 mm ó 12 x 75 mm.
  - Tapones de hule o Papel parafilm.
  - Pipetas pasteur,

- Pipetas automáticas 1-5 ml y de 200-1000 ul,
- Frascos goteros de 10 ml,
- Etiquetas.
- Erlenmeyer de 25 ml o 16 x 100 mm.
- Reactivos:
  - Solución salina fisiológica o Solución de Preservación
  - Reactivo Anti-A, Anti-B y Anti-D.
  - Solución salina al 0.85 % pH 6.5- 7.5

#### **PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO:**

- La preparación de una solución de células control de Coombs tiene el propósito de validar todas las reacciones negativas para el procedimiento de Antiglobulina humana.

#### **PROCEDIMIENTO:**

- Seleccione una muestra de sangre de grupo O positivo con anticoagulante.
- Centrifugue la muestra por 5 minutos a 3400 rpm
- Descarte el plasma sobrenadante con la ayuda de una pipeta pasteur.
  - a. Emplear una pipeta para cada muestra y desecharlas como está establecido para el material infeccioso.
- Colocar con la ayuda de una pipeta Pasteur 1 ml de la porción de glóbulos rojos o sedimento en un tubo 13 x 100 mm (ó 12 x 75mm)
  - Completar con solución salina hasta 1 cm del borde.
  - Mezcle unas 10 veces por inversión antes de la centrifugación hasta que no se observen células adheridas al fondo del tubo.
- Organizar los tubos en la centrífuga.

- Los cestillos y los soportes se deben unir en parejas por el peso y equilibrar correctamente con los tubos colocados, manteniendo una disposición geométrica simétrica.
  - Para equilibrar los cestillos de las centrifugas para tubos, se recomienda hacerlo con alcohol al 70%.
  - No se recomienda emplear agua, solución salina o hipoclorito de sodio, porque el derramamiento de estos productos conlleva a la corrosión de los metales
- Centrifugar durante a 3400 rpm por 5 minutos.
  - Descarte toda la solución salina usando una pipeta Pasteur para sedimentar las células
  - Agregue un poco de solución salina y agite el tubo para resuspender los glóbulos rojos.
  - Repetir la operación hasta completar 4 lavados.
    - En el último lavado, la solución salina debe ser clara, sin signos de hemólisis.
- Descarte siempre la salina con una pipeta Pasteur y en la última lavada procure eliminarla completamente.
- Con la ayuda de una pipeta automática trasladar 750 microlitros de sedimento globular para un frasco de 10 ml.
  - Colocar esa preparación en un Erlenmeyer de 25ml o en un tubo de ensayo 16 x 100 mm
  - Agregar la cantidad de Anti-D necesaria para la sensibilización de acuerdo a su potencia.
  - Agregar por cada 0,5 ml de células, 4.5 ml de solución salina fisiológica y mezclar bien
  - Colocar en Baño María a 37° C por 30 minutos y mezclar cada 5 minutos.
  - Sacar del Baño María luego de la incubación. Si la preparación se realiza en un tubo 16 x 100 mm proceder de una vez a la centrifugación.
  - a. Si las células están en el Erlenmeyer traslade a tubos de ensayo con tapón.

- Centrifugar 2 minutos a 3 400 rpm, descarte el sobrenadante y lave el sedimento 4 veces igual que en los pasos anteriores.
- Colocar 0.4 ml de paquete en un frasco gotero previamente esterilizado y etiquetado, destinado para su almacenamiento.
- Agregar 9.6 ml de solución de preservación o en su defecto solución salina fisiológica.
- Separar en dos alícuotas: uno de los frascos como reserva y el otro para trabajo diario.
- Colocar en un tubo de ensayo 12 x 75 mm 1 gota de reactivo de antiglobulina humana y agregar una gota de Células Control de Coombs recién preparadas.
- Centrifugue a 3400 rpm por 15 segundos.
  - La reacción obtenida deberá ser de 3+.
  - Si la reacción con antiglobulina es demasiado potente o débil, los glóbulos rojos no son apropiados para controlar la prueba de antiglobulina.
- Almacenar a temperatura de 4° C mientras no se estén utilizando.
  - No deben dejarse a temperatura ambiente ya que las células pueden hemolizarse. (Fonseca H. A., Procedimiento de inmunohematología en medicina transfusional en la preparación de células control de coombs, 2011)

#### **4. DETERMINACIÓN DE GRUPO SANGUÍNEO ABO PRUEBA DIRECTA MÉTODO EN TUBO.**

##### **OBJETIVO:**

- Describir cómo se realiza la determinación de los grupos sanguíneos de los sistemas ABO mediante el empleo de la Prueba o Método Directo o Globular.

##### **ALCANCE:**

- Esta determinación y este método debe emplearse siempre como parte de los estudios inmunohematológicos pre transfusionales o estudios de compatibilidad sanguínea.

##### **RESPONSABILIDAD:**

- Cada funcionario (profesional o técnico encargado de las actividades de laboratorio de inmunohematología del Servicio de Medicina Transfusional del hospital) será responsable del estricto cumplimiento de este procedimiento.
- Responsable del Servicio de Medicina Transfusional, será el encargado de asegurar los recursos imprescindibles para la realización de éste procedimiento.
- El Responsable de Aseguramiento de la Calidad del Servicio de Transfusión, que valiéndose de las inspecciones y auditorias controlará el cumplimiento de lo establecido en el presente POE.

#### **DOCUMENTOS DE REFERENCIA:**

- Estándares de Medicina Transfusional
- Manual de Procedimientos en Medicina Transfusional
- Manual AABB

#### **DEFINICIONES:**

- Grupo Sanguíneo: Es una forma de agrupar ciertas características de la sangre que dependen de los antígenos presentes en la superficie de los glóbulos rojos y en el suero de la sangre. Esta ha sido la base para que se pueda clasificar a la sangre en cuatro grandes grupos sanguíneos en cuanto al sistema ABO: grupo A, grupo AB, grupo B y grupo O; y en dos con respecto al sistema Rh: Rh negativo o Rh positivo. Lo que a la postre trae ocho grupos sanguíneos por las combinaciones posibles entre estos dos importantes sistemas de grupos sanguíneos.
  - La determinación de grupos sanguíneos del sistema ABO y Rh (D) se efectúa enfrentando los hematíes problema con reactivos de especificidad conocida anti A, anti B y anti D. La aglutinación o no de los hematíes ensayados frente a cada uno de los reactivos es indicativa de la presencia o ausencia de los correspondientes antígenos.
- Prueba Directa: También conocida como Prueba Globular, es la que se realiza a partir de eritrocitos, considerando la presencia en ellos de los antígenos de los grupos sanguíneos. Se utiliza la técnica con solución salina a temperatura ambiente.

#### **LOCALES, EQUIPAMIENTOS, MATERIALES, REACTIVOS E INSUMOS:**

- Local: área de laboratorio del Servicio de Medicina Transfusional
- Equipamiento:
  - Centrífuga de tubo (serógufa)
  - Refrigerador para conservar reactivos, controles y muestras de sangre
  - Aglutinoscopio (caja de luz) o en su defecto azulejo blanco
  - Baño María
  - Lupa (2x a 5x)
- Materiales e Insumos:
  - Guantes y demás equipos de protección personal
  - Pipetas Pasteur
  - Tubos 13 x 100 mm ó 12 x 75 mm
  - Indicadores de pH
- Reactivos:
  - Solución Salina Fisiológica.
  - Sueros hemoclasificadores Anti-A, Anti-B y Anti-AB

#### **PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO:**

- Debido a la presencia en el plasma normal de anticuerpos contra grupos sanguíneos (aglutininas naturales) y en los eritrocitos de antígenos de grupos, es posible determinar el grupo sanguíneo a partir de eritrocitos que es a lo que se le conoce como Prueba Directa o Globular.
  - Los anticuerpos del sistema ABO son de naturaleza IgM y su temperatura de actividad óptima es baja (4 °C). No obstante siguen siendo activos a 37 °C y además son aglutinantes, es decir producen la aglutinación de los eritrocitos cuando entran en contacto con ellos suspendidos en medio salino.
  - Sin embargo, pueden existir anticuerpos de especificidad anti – A y anti – B, de naturaleza IgG con características diferentes de los naturales y con un riesgo potencial de hemólisis mayor den casos de transfusión incompatible
- Las técnicas de determinación grupos sanguíneos eritrocitarios, están basadas fundamentalmente en una reacción de Aglutinación Antígeno – Anticuerpo (Ag – Ac), poniendo en contacto los hematíes donde se encuentran los Antígenos con los Antisueros

(Reactivos) Los antígenos reaccionan con los anticuerpos y el resultado de la reacción es la formación de grumos de hematíes o aglutinados.

- Las determinaciones de antígenos eritrocitarios y el estudio de anticuerpos en sueros se basan principalmente en la aglutinación de los hematíes, aunque en ocasiones la unión antígeno/anticuerpo que activa la vía clásica del sistema del complemento puede ser detectada por una hemólisis “in vitro”. Los anticuerpos de grupo sanguíneo esencialmente hemolíticos son: anti-A, anti-B, anti-Lea, anti-Vel y anti-PP1.
- La reacción hemolítica “in vitro” debida a los anticuerpos de grupo sanguíneo se produce con poca frecuencia ya que la secuencia de la activación del complemento se interrumpe a partir del componente C<sub>3</sub>.
- Un factor muy importante es el tipo de inmunoglobulina a que pertenecen los anticuerpos reaccionantes. Si los anticuerpos son del tipo IgM la aglutinación se produce directamente. Por su tamaño molecular y la distribución de los lugares de reacción con los antígenos, pueden unirse fácilmente con varios hematíes y producir su aglutinación.
- La sensibilización de hematíes por anticuerpos de tipo IgG no puede producir aglutinación. La molécula de IgG es demasiado pequeña para unirse a más de un hematíe a no ser que se introduzca algún artificio o elemento potenciador.
- La técnica o método en tubo tiene la ventaja de que permite la incubación prolongada sin evaporación del contenido.

### **PROCEDIMIENTO:**

- Elegir tres tubos bien limpios, previamente identificados y rotulados de acuerdo al protocolo de trabajo.
- En cada uno de ellos colocar dos gotas del reactivo dos gotas de anti-A, anti-B y dos gotas de anti -A+B respectivamente.
- Añadir a cada tubo una gota de suspensión de glóbulos rojos al 4 % de la muestra de sangre en estudio.

- Mezclar bien pero suavemente el contenido de los tubos, sin agitar.
- Colocar de manera ordenada los tubos en la centrífuga
- Centrifugar los tubos durante 15 segundos a una velocidad de 1.000 – 1.200 r.p.m.
- Leer, resuspendiendo suavemente el sedimento de hematíes y examinar si hay aglutinación con la ayuda del aglutinoscopio.
  - La reactividad debe ser evaluada cuando los eritrocitos han sido resuspendidos totalmente.
  - Se debe evaluar un tubo por vez, colocándolo contra un fondo blanco bien iluminado, un aglutinoscopio o negatoscopio con luz difusa o un espejo cóncavo).
  - Se debe inclinar el tubo y se agita con suavidad para movilizar los glóbulos rojos sedimentados y evaluar la presencia de aglutinación. El empleo de una lupa facilita la lectura.
  - Debe inspeccionarse el suero que cubre el botón de células centrifugadas para detectar hemólisis, que también es un signo positivo de reacción antígeno-anticuerpo, siempre que el aspecto del suero anterior a la prueba no hubiera estado hemolizado y no se agregara ningún agente hemolítico a la prueba
  - Si se advierte hemólisis debe consignarse.
- Comparar los resultados obtenidos con los reportados en la Prueba Reversa.
- Registrar los resultados obtenidos en el Registro General del Laboratorio de Inmunoematología
  - a. Debe anotarse y registrarse el carácter de la aglutinación. Deben quedar registrados los aglutinados débiles, "filamentosos", en campo mixto o refráctiles, ya que brindan indicios valiosos en la investigación de hallazgos inesperados.
- En caso de presentarse una aglutinación dudosa, incube en baño maría a 37 °C durante 30 min.



### INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS:

<b>Grupo Sanguíneo</b>	<b>Suero anti-A</b>	<b>Suero anti-B</b>	<b>Suero anti - A+B</b>
O	-	-	-
A	+	-	+
B	-	+	+
AB	+	+	+

- Se informará con cruces (desde 1+ a 4+) de acuerdo al grado de intensidad de la aglutinación.
  - 4+ significa aglutinación completa de todas las células
  - 3+ significa aglutinación de la mayoría de las células
  - 2+ significa aglutinación a simple vista
  - 1+ significa positividad débil a simple vista, neta cuando se emplea una lupa o espejo cóncavo
  - Negativo cuando no se observa aglutinación
  - Lisis cuando se observa hemólisis
- De forma general si en un tubo hay formación de botón (reacción antígeno-anticuerpo), quiere decir que los eritrocitos ensayados tienen el antígeno que reacciona con los anticuerpos presentes en el antisuero para ese tubo; y si no presentan aglutinación querrá decir que no corresponde el antígeno del eritrocito con el anticuerpo del antisuero, o que el antígeno está ausente en esos eritrocitos.
- De esta manera se puede observar que una muestra sanguínea muestre un solo tipo de antígenos del sistema ABO sobre su membrana (A o B), o que muestre ambos antígenos (AB), o ninguno de ellos (O).
- Cualquier resultado discrepante deberá ser aclarado y resuelto antes del siguiente paso o conducta a seguir. (Fonseca H. A., Procedimiento de inmunohematología en medicina transfusional de la determinación de grupo sanguíneo ABO prueba directa método en tubo, 2011)

## **5. DETERMINACIÓN DE GRUPO SANGUÍNEO ABO PRUEBA REVERSA MÉTODO EN TUBO**

### **OBJETIVO:**

- Describir cómo se realiza la determinación de los grupos sanguíneos de los sistemas ABO mediante el empleo del Método o Prueba Reversa o Indirecta.

### **ALCANCE:**

- Esta determinación y este método debe emplearse siempre como parte de los estudios inmunohematológicos pretransfusionales o estudios de compatibilidad sanguínea.

### **RESPONSABILIDAD:**

- Cada funcionario (profesional o técnico encargado de las actividades de laboratorio de inmunohematología del Servicio de Medicina Transfusional del hospital) será responsable del estricto cumplimiento de este procedimiento.
- Responsable del Servicio de Medicina Transfusional, será el encargado de asegurar los recursos imprescindibles para la realización de éste procedimiento.
- El Responsable de Aseguramiento de la Calidad del Servicio de Transfusión, que valiéndose de las inspecciones y auditorías controlará el cumplimiento de lo establecido en el presente POE.

### **DOCUMENTOS DE REFERENCIA:**

- Estándares de Medicina Transfusional
- Manual AABB

### **DEFINICIONES:**

- Grupo Sanguíneo: Es una forma de agrupar ciertas características de la sangre que dependen de los antígenos presentes en la superficie de los glóbulos rojos y en el suero de la sangre. Esta ha sido la base para que se pueda clasificar a la sangre en cuatro grandes grupos sanguíneos en cuanto al sistema ABO: grupo A, grupo AB, grupo B y grupo O; y en dos con respecto al sistema Rh: Rh negativo o Rh positivo. Lo que a la postre trae ocho grupos sanguíneos por las combinaciones posibles entre estos dos importantes sistemas de grupos sanguíneos.
- Prueba Reversa: También conocida como Prueba Inversa, es la que se realiza a partir del suero sanguíneo, considerando la presencia en ellos de los anticuerpos naturales contra los antígenos de los grupos sanguíneos, presentes en los glóbulos rojos (de suspensiones de células reactivos). Se utiliza la técnica con solución salina a temperatura ambiente que permite la determinación de la presencia o ausencia de los anticuerpos naturales mediante aglutinación directa, utilizando glóbulos rojos A y B.
  - Este procedimiento permite detectar anticuerpos anti – ABO en el suero o plasma. Los anticuerpos séricos se correlacionan con los antígenos eritrocitarios; por lo tanto personas del grupo A tendrán anticuerpos anti – B, personas del grupo B tendrán anti – A, personas del grupo AB no tendrán anti – A ni anti – B y si es del grupo O tendrán ambos anticuerpos. Es así que las pruebas directa o globular y la inversa o reversa se complementan y una confirma a la otra.

### **LOCALES, EQUIPAMIENTOS, MATERIALES, REACTIVOS E INSUMOS:**

- Local: área de laboratorio del Servicio de Medicina Transfusional
- Equipamiento:
  - Centrífuga de tubo (serógufa)
  - Refrigerador para conservar reactivos, controles y muestras de sangre
  - Aglutinoscopio (caja de luz) o en su defecto azulejo blanco
  - Baño María
  - Lupa (2x a 5x)
- Materiales e Insumos:

- Guantes y demás equipos de protección personal
- Pipetas Pasteur
- Tubos 13 x 100 mm ó 12 x 75 mm
- Indicadores de pH
- Reactivos:
  - Solución Salina Fisiológica.
  - Suspensiones de glóbulos rojos de los grupos A<sub>1</sub> y B, optativamente pueden emplearse A<sub>2</sub> y O

#### **PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO:**

- Debido a la presencia en el plasma normal de anticuerpos contra grupos sanguíneos (aglutininas naturales) y en los eritrocitos de antígenos de grupos, es posible determinar el grupo sanguíneo a partir del suero sanguíneo que es a lo que se le conoce como Prueba Reversa o Inversa
- Las técnicas de determinación grupos sanguíneos eritrocitarios, están basadas fundamentalmente en una reacción de Aglutinación Antígeno – Anticuerpo (Ag – Ac), poniendo en contacto los hematíes ya que en la membrana de éstos se encuentran los Antígenos con los Antiseros (Reactivos) anti A, anti B y anti A+B. Los antígenos situados en la membrana de los hematíes reaccionan con los anticuerpos y el resultado de la reacción es la formación de grumos de hematíes o aglutinados.
  - Las determinaciones de antígenos eritrocitarios y el estudio de anticuerpos en sueros se basan principalmente en la aglutinación de los hematíes, aunque en ocasiones la unión antígeno/anticuerpo que activa la vía clásica del sistema del complemento puede ser detectada por una hemólisis “in vitro”. Los anticuerpos de grupo sanguíneo esencialmente hemolíticos son: anti-A, anti-B, anti-Lea, anti-Vel y anti-PP1.

- La reacción hemolítica “in vitro” debida a los anticuerpos de grupo sanguíneo se produce con poca frecuencia ya que la secuencia de la activación del complemento se interrumpe a partir del componente C<sub>3</sub>.
- Un factor muy importante es el tipo de inmunoglobulina a que pertenecen los anticuerpos reaccionantes. Si los anticuerpos son del tipo IgM la aglutinación se produce directamente. Por su tamaño molecular y la distribución de los lugares de reacción con los antígenos, pueden unirse fácilmente con varios hematíes y producir su aglutinación.
- La sensibilización de hematíes por anticuerpos de tipo IgG no puede producir aglutinación. La molécula de IgG es demasiado pequeña para unirse a más de un hematíe a no ser que se introduzca algún artificio o elemento potenciador.
- La técnica o método en tubo tiene la ventaja de que permite la incubación prolongada sin evaporación del contenido.

#### **PROCEDIMIENTO:**

- En los dos tubos bien limpios, previamente identificados y rotulados, colocar una gota de suspensión de glóbulos rojos (reactivo) correspondiente al grupo A en el tubo rotulado con esa letra y del grupo B en el tubo rotulado con esa letra.
- Añadir a cada tubo una gota del suero o plasma problema (muestra de sangre en estudio).
- Mezclar bien pero suavemente el contenido de los tubos, sin agitar.
  - Algunos autores recomiendan incubar a temperatura ambiente durante 5 a 15 minutos.
- Colocar los tubos ordenadamente en el rotor de la centrífuga.
- Centrifugar los tubos durante 1 minuto a una velocidad de 1.000 – 1.200 r.p.m.
- Leer con la ayuda del aglutinoscopio, resuspendiendo suavemente el sedimento de hematíes y examinar si hay aglutinación o signos de hemólisis en el sobrenadante.
  - La reactividad debe ser evaluada cuando los eritrocitos han sido resuspendidos totalmente.
- Se debe evaluar un tubo por vez, colocándolo contra un fondo blanco bien iluminado, un aglutinoscopio o negatoscopio con luz difusa o un espejo cóncavo).

- Se debe inclinar el tubo y se agita con suavidad para movilizar los glóbulos rojos sedimentados y evaluar la presencia de aglutinación. El empleo de una lupa facilita la lectura.
- Debe inspeccionarse el suero que cubre el botón de células centrifugadas para detectar hemólisis, que también es un signo positivo de reacción antígeno-anticuerpo, siempre que el aspecto del suero anterior a la prueba no hubiera estado hemolizado y no se agregara ningún agente hemolítico a la prueba.
  - Si se advierte hemólisis debe consignarse.
  - Comparar los resultados obtenidos con los reportados en la Prueba Directa.
- Registrar los resultados obtenidos en el Libro Registro General del Laboratorio de Inmunohematología
- En caso de presentarse una aglutinación dudosa, incube en baño maría a 37 °C durante 30 minutos.

#### **INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS:**

- La aglutinación de los glóbulos rojos o la presencia de hemólisis constituyen resultados positivos, mientras que la suspensión uniforme después de la resuspensión de las células constituye un resultado negativo.

<b>Grupo Sanguíneo</b>	<b>Eritrocitos A</b>	<b>Eritrocitos B</b>	<b>Eritrocitos O</b>
O	+	+	-
A	-	+	-
B	+	-	-
AB	+	+	-

- Si en un tubo hay formación del botón (reacción antígeno-anticuerpo) quiere decir que el plasma del paciente ensayado tiene los anticuerpos que reaccionan con los eritrocitos con antígeno conocido, los cuales sirven de reactivo para esta prueba. Por lo tanto una reacción positiva en este método definitivamente indica que el paciente no tiene

eritrocitos con antígenos que reaccionarían con los anticuerpos de su plasma. De ahí que el método se le nombre inverso.

- Se informará con cruces (desde 1+ a 4+) de acuerdo al grado de intensidad de la aglutinación.
  - 4+ significa aglutinación completa de todas las células
  - 3+ significa aglutinación de la mayoría de las células
  - 2+ significa aglutinación a simple vista
  - 1+ significa positividad débil a simple vista, neta cuando se emplea una lupa o espejo cóncavo
  - Negativo cuando no se observa aglutinación
  - Lisis cuando se observa hemólisis
- Comparar los resultados con los obtenidos con la técnica o método Directo.
- Todas las discrepancias entre los resultados de las pruebas en el suero o plasma y las células deberá ser aclarado y resuelto antes de registrar la interpretación del tipo ABO del paciente o de la unidad de sangre del donante. (Fonseca H. A., Determinacion de grupo sanguíneo ABO prueba reserva metodo en tubo., 2011)

## **6. DETERMINACIÓN DE GRUPO SANGUÍNEO RhD MÉTODO EN TUBO.**

### **OBJETIVO:**

- Describir cómo se realiza la determinación del Factor Rh (Anti – D) con la técnica en tubo a partir de eritrocitos lavados.

### **ALCANCE:**

- Para todo el personal profesional y técnico del Servicio de Medicina Transfusional encargado de ejecutar este procedimiento.

### **RESPONSABILIDAD:**

- Cada funcionario (profesional o técnico encargado de las actividades de laboratorio de inmunohematología del Servicio de Medicina Transfusional del hospital) será responsable del estricto cumplimiento de este procedimiento.
- Responsable del Servicio de Medicina Transfusional, será el encargado de asegurar los recursos imprescindibles para la realización de éste procedimiento.
- El Responsable de Aseguramiento de la Calidad del Servicio de Transfusión, que valiéndose de las inspecciones y auditorias controlará el cumplimiento de lo establecido en el presente POE.

#### **DOCUMENTOS DE REFERENCIA:**

- Estándares de Medicina Transfusional
- Manual AABB

#### **DEFINICIONES:**

- Grupo Sanguíneo: Es una forma de agrupar ciertas características de la sangre que dependen de los antígenos presentes en la superficie de los glóbulos rojos y en el suero de la sangre. Esta ha sido la base para que se pueda clasificar a la sangre en cuatro grandes grupos sanguíneos en cuanto al sistema ABO: grupo A, grupo AB, grupo B y grupo O; y en dos con respecto al sistema Rh: Rh negativo o Rh positivo. Lo que a la postre trae ocho grupos sanguíneos por las combinaciones posibles entre estos dos importantes sistemas de grupos sanguíneos.
- Factor Rh: Es una clase de proteína que se encuentra en los glóbulos rojos de la sangre, cuando alguien tiene esa proteína se le considera “Rh Positivo”. Cuando no la tiene es “Rh Negativo”. El factor Rh es hereditario y se transmite en dos genes. El Factor Rh positivo es dominante, es decir si una persona tiene un gen positivo y otro negativo, su factor Rh será positivo. Su determinación es importante en el diagnóstico y estudio de la eritroblastosis fetal, en la que los glóbulos rojos del niño se encuentran sensibilizados con anticuerpo materno. Es útil también en el diagnóstico de la anemia hemolítica adquirida



(anticuerpos sobre los glóbulos rojos del mismo paciente), así como la determinación de eritrocitos sensibilizados en sangre usados para transfusión.

### **LOCALES, EQUIPAMIENTOS, MATERIALES, REACTIVOS E INSUMOS:**

- Local: área de laboratorio del Servicio de Medicina Transfusional
- Equipamiento:
  - Centrífuga de tubo (serógufa)
  - Refrigerador para conservar reactivos, controles y muestras de sangre
  - Aglutinoscopio (caja de luz) o en su defecto azulejo blanco
  - Baño María
  - Lupa (2x a 5x)
- Materiales e Insumos:
  - Guantes y demás equipos de protección personal
  - Pipetas Pasteur
  - Tubos 13 x 100 mm ó 12 x 75 mm
  - Indicadores de pH
- Reactivos:
  - Solución Salina Fisiológica.
  - Suero hemoclasificador Anti-D

### **PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO:**

- Debido a la presencia en el plasma normal de anticuerpos contra grupos sanguíneos (aglutininas naturales) y en los eritrocitos de antígenos de grupos, es posible determinar el grupo sanguíneo a partir de eritrocitos que es a lo que se le conoce como Prueba Directa o Globular.
- Las técnicas de determinación de grupos sanguíneos eritrocitarios, están basadas fundamentalmente en una reacción de Aglutinación Antígeno – Anticuerpo (Ag – Ac), poniendo en contacto los hematíes ya que en la membrana de éstos se encuentran los Antígenos con los Antiseros (Reactivos) anti A, anti B y anti A+B. Los antígenos

situados en la membrana de los hematíes reaccionan con los anticuerpos y el resultado de la reacción es la formación de grumos de hematíes o aglutinados.

- Las determinaciones de antígenos eritrocitarios y el estudio de anticuerpos en sueros se basan principalmente en la aglutinación de los hematíes, aunque en ocasiones la unión antígeno/anticuerpo que activa la vía clásica del sistema del complemento puede ser detectada por una hemólisis “in vitro”. Los anticuerpos de grupo sanguíneo esencialmente hemolíticos son: anti-A, anti-B, anti-Lea, anti-Vel y anti-PP1.
- La reacción hemolítica “in vitro” debida a los anticuerpos de grupo sanguíneo se produce con poca frecuencia ya que la secuencia de la activación del complemento se interrumpe a partir del componente C<sub>3</sub>.
- Un factor muy importante es el tipo de inmunoglobulina a que pertenecen los anticuerpos reaccionantes. Si los anticuerpos son del tipo IgM la aglutinación se produce directamente. Por su tamaño molecular y la distribución de los lugares de reacción con los antígenos, pueden unirse fácilmente con varios hematíes y producir su aglutinación.
- La sensibilización de hematíes por anticuerpos de tipo IgG no puede producir aglutinación. La molécula de IgG es demasiado pequeña para unirse a más de un hematíe a no ser que se introduzca algún artificio o elemento potenciador.
- El antígeno D es el más inmunógeno y determina a las personas Rh(+). Algunos individuos Rh(+) presentan una expresión débil del Ag D: defecto cuantitativo (D débil) o incompleto (D parcial)
- Los anticuerpos del sistema Rh son por lo general inmunes es decir no existen en los individuos que carecen del antígeno correspondiente, a no ser que haya habido una sensibilización previa.
- Los reactivos Rh más recientes en el mercado son los que contienen una mezcla de un anticuerpo IgM monoclonal y un anticuerpo IgG policlonal.
  - El anti – D monoclonal permite la determinación del antígeno D en una centrifugación inmediata
  - El anti – D policlonal permite la prueba de detección del antígeno D débil

- La técnica o método en tubo tiene la ventaja de que permite la incubación prolongada sin evaporación del contenido.
- Esta técnica para la determinación del Factor Rh permite determinar la presencia o ausencia de los antígenos D celulares mediante aglutinación directa.

### **PROCEDIMIENTO:**

- Agregar al tubo rotulado como Anti-D una gota del reactivo hemoclasificador Anti-D.
- Agregar al otro tubo rotulado como Control Rh o Autocontrol una gota de la solución de control Rh.
  - Si no se dispone de control Rh utilizar un autocontrol al cual se le agregará 2 gotas de suero del paciente.
- Agregar a cada tubo con reactivo una gota de suspensión de glóbulos rojos al 4% de la muestra de sangre en estudio.
- Mezclar el contenido de los tubos con suavidad
- Colocar los tubos ordenadamente en el rotor de la centrífuga.
- Centrifugar durante 1 minuto a una velocidad de 1.000 – 1.200 r.p.m.
- Resuspender con suavidad el botón celular y examinar en busca de aglutinación.
  - a. La mezcla de suero y células utilizada en los pasos anteriores, puede emplearse para examinar D débil, siempre que las instrucciones del fabricante establezcan que el reactivo es apropiado para la prueba de D débil.
- Registrar los resultados

Este procedimiento puede variar en dependencia del tipo de reactivo anti – D disponible. Algunos anti – D monoclonales operan en solución salina a temperatura ambiente pero otros requieren incubación a 37 °C o agregado de albúmina. En esos casos se recomienda seguir los siguientes pasos:

### **SOLUCIÓN SALINA A TEMPERATURA AMBIENTE**

- Colocar una gota de suero anti – D en el tubo rotulado.

- Colocar una gota de Albúmina al 3% en otro tubo rotulado
- Añadir a cada tubo una gota de suspensión de glóbulos al 4% de la muestra problema o en estudio, en su propio plasma o solución salina fisiológica.
- Mezclar bien pero suavemente el contenido de los tubos, sin agitar.
- Centrifugar los tubos durante 1 minuto a una velocidad de 1.000 – 1.200 r.p.m.
- Después de agitar suavemente los tubos para resuspender los eritrocitos, observar la aparición de microaglutinados.
  - Si los microaglutinados no pueden observarse a simple vista, debe descartarse su presencia mediante la observación microscópica de la suspensión de eritrocitos.
  - La aparición de positividad en el tubo de albúmina anula la positividad de la prueba. Si empleando las técnicas en tubo y además en placa el testigo de albúmina es positivo debe repetirse la prueba utilizando esta vez glóbulos rojos lavados tres veces consecutivas en suero fisiológico y suspendidos al 40 % en suero de un sujeto AB. Si aun así persiste la positividad debe efectuarse una prueba de Coombs directo para descartar la existencia de AHAI.
- Registrar los resultados obtenidos en el Registro General del Laboratorio de Inmunohematología

### **INCUBACIÓN A 37 °C**

- Colocar una gota de suero anti – D en el tubo rotulado.
- Agregar 1 gota de suspensión glóbulos rojos al 4 % de la muestra problema al tubo con en anti – D.
- Mezclar bien pero suavemente el contenido de los tubos, sin agitar
- Incubar a temperatura ambiente durante 60 minutos
- Inspeccionar en busca de signos de aglutinación u hemólisis
- Registrar los resultados obtenidos

## AGREGADO DE ALBÚMINA

- Colocar una gota de suero anti – D en el tubo rotulado.
- Agregar 1 gota de suspensión glóbulos rojos al 4 % de la muestra problema al tubo con en anti – D.
- Mezclar bien e incubar a 37 °C durante 45 a 60 minutos.
- Agregar 1 gota de albúmina por las paredes del tubo para no dispersar los glóbulos rojos sedimentados.
- Incubar a 37 °C durante 15 minutos
- Inspeccionar en busca de signos de aglutinación u hemólisis

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS:

- La aglutinación en el tubo con Anti – D y la suspensión uniforme en el de control indican que los glóbulos rojos en estudio son D positivos
  - La presencia de aglutinación con el suero anti – D definirá a una persona como Rh positiva.
    - La mayoría de los antisueros comerciales logran una aglutinación de las células D positivas de 2+ o mayor.
    - Cuando la aglutinación observada es menor de 2+, se recomienda emplear prueba alguna de las adicionales antes descrita.
  - La suspensión uniforme de los glóbulos rojos en los tubos (ausencia de aglutinación con Anti – D o en el control) constituye un resultado negativo y sugiere que las células son D negativos y la persona es “Rh negativa”
    - La Prueba Antiglobulínica puede demostrar la eventual expresión débil del D en las células no aglutinadas con esta técnica.
- Si se observa aglutinación en el tubo de control, los resultados de la prueba con Anti – D no deben interpretarse como positivos sin estudios adicionales. (Fonseca H. A., 2011)

## **7. PRUEBA DE COOMBS DIRECTA.**

### **OBJETIVO:**

- Describir cómo se realiza la Prueba de Coombs Directa.

### **ALCANCE:**

- Para todo el personal profesional y técnico del área laboratorio del Servicio de Medicina Transfusional, encargado de ejecutar este procedimiento.

### **RESPONSABILIDAD:**

- Cada funcionario (profesional o técnico encargado de las actividades de laboratorio de inmunohematología del Servicio de Medicina Transfusional del hospital) será responsable del estricto cumplimiento de este procedimiento.
- Responsable del Servicio de Medicina Transfusional, será el encargado de asegurar los recursos imprescindibles para la realización de éste procedimiento.
- El Responsable de Aseguramiento de la Calidad del Servicio de Transfusión, que valiéndose de las inspecciones y auditorías controlará el cumplimiento de lo establecido en el presente POE.

### **DOCUMENTOS DE REFERENCIA:**

- Estándares de Medicina Transfusional
- Manual AABB

### **DEFINICIONES:**

- La Prueba de Coombs Directa es una técnica de aglutinación en tubo que se utiliza para detectar la presencia de globulina humana en la superficie de las células sensibilizadas en

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

- El test de la Antiglobulina o test de Coombs fue descrito en 1945 por Coombs, Mourant y Race para detectar los anticuerpos anti-Rh no aglutinantes o incompletos. Posteriormente se usó para demostrar la sensibilización de los hematíes in vivo en pacientes con AHAI (Anemia hemolítica autoinmune). Es la técnica más importante en inmunohematología.
- Consiste en añadir antiglobulina antihumana a los hematíes del individuo. Si éstos están recubiertos con IgG o complemento la prueba será positiva. Un resultado positivo es un indicador de una posible destrucción de los hematíes por los macrófagos.
- Se emplea para determinar la existencia de glóbulos rojos recubiertos con inmunoglobulinas y/o complemento in vivo.
  - Se postula que se necesitan 100-200 moléculas de IgG o complemento fijado a cada hematíe para poder detectarlo
- Los eritrocitos no se incuban con suero, sino que se lavan y mezclan con antiglobulina humana; es decir se evalúan en forma directa.
- En general la Prueba de Antiglobulina Directa inicial se lleva a cabo con suero antiglobulina humana o suero de Coombs poliespecífico, reactivo capaz de detectar IgG y C3d.
- Se realiza cuando se quiere saber si existe algún anticuerpo antieritrocitario fijado en los hematíes:
  - Diagnóstico de la anemia hemolítica autoinmune (AHAI)
  - Enfermedad hemolítica del recién nacido
  - Hemólisis por fármacos
  - Reacción hemolítica post-transfusional.

**LOCALES, EQUIPAMIENTOS, MATERIALES, REACTIVOS E INSUMOS:**

- Local: Servicio de Medicina Transfusional
- Equipamiento:
  - Centrífuga.
  - Refrigeradores para conservación de reactivos
  - Aglutinoscopio
- Materiales e insumos:
  - guantes y demás equipos de protección personal
  - Tubos de ensayo de 13 x 100 o de 12 x 75 mm
  - Gradillas para tubos
  - Pipetas de Pasteur
- Reactivos:
  - Solución Salina Fisiológica
  - Células Control de Coombs (Ver POE Inm-SMT 007-11 Preparación de células control de Coombs)
  - Suero Antiglobulina Humana (Sueros de Coombs poliespecífico y monoespecífico anti IgG y anti C3d).

**PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO:**

- Cuando la antiglobulina humana obtenida generalmente mediante inoculación de animales (conejo casi siempre) con suero humano, se pone en presencia de glóbulos rojos recubiertos por un tipo de anticuerpo incompleto, se produce aglutinación. Por tanto la Prueba de Coombs Directa pone de manifiesto la presencia de anticuerpos incompletos fijados a la membrana eritrocitaria y que son la causa de la hemólisis in vivo.
- Es posible visualizar la aglutinación de los hematíes cuando están sensibilizados con anticuerpos anti-IgG o complemento gracias a la adición de Globulina dirigida contra anticuerpos humanos.



- La Prueba de Coombs Directa está indicada siempre que exista sospecha clínica o biológica de hemólisis por mecanismo inmunitario: AHAI, Anemia hemolítica medicamentosa, Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido y reacción hemolítica post-transfusional.

### **PROCEDIMIENTO:**

- Se debe emplear sangre total anticoagulada con EDTA (para evitar la fijación del complemento in vitro)
- Centrifugar la sangre anticoagulada durante 5 minutos a 3000 rpm
- Separar el plasma.
- Lavar cuatro veces los eritrocitos con solución salina fisiológica.
  - a. Añadir solución salina hasta completar el volumen del tubo y decante bien esta después de cada centrifugación
- Decantar completamente la solución salina después del último lavado.
- Preparar una suspensión de glóbulos rojos al 4%.
  - a. Ver POE Inm -SMT 003-11 Preparación de suspensión de células 4%
- En uno de los dos tubos preparados colocar 1 gota de glóbulos rojos suspendidos en solución salina fisiológica
- Al primer tubo añadir 1 gota del suero antiglobulina humana o Suero de Coombs poliespecífico. Al otro tubo (control) añadir y 1 o 2 gotas de Albúmina bovina al 6%.
- Mezclar bien y luego colocar de manera ordenada los tubos en la centrífuga.
- Centrifugar durante 45 minutos a 1000 rpm y leer macroscópicamente.
- Cuando la Prueba de Coombs es positiva debe procederse a investigar si lo que recubre la superficie eritrocitaria es una Inmunoglobulina, el complemento o ambos simultáneamente. Así mismo debe investigarse la naturaleza del autoanticuerpo existente (IgG o IgM).
  - a. Para ello el método que se emplea es el mismo pero utilizando un suero antiglobulínico específico, anti – IgG y anti – C<sub>3</sub>/C<sub>4</sub> del Complemento que son las implicadas en la positividad de la Prueba de Coombs

- Como control, a los tubos con resultados negativos:
  - a. Añadir 1 gota de la suspensión de células control de Coombs
  - b. Centrifugar a 1 minuto a 1000 rpm
  - c. Leer la aglutinación. Esta debe ser de 1+ ó 2+

### **INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS:**

- a. La aparición de aglutinación (positividad de la prueba) significa, en general la presencia de inmunoglobulinas fijadas en la superficie de los eritrocitos y por tanto el carácter autoinmune de la Anemia Hemolítica que pudiera presentar el paciente, aunque se debe tener en cuenta que una Prueba de Antiglobulina Directa positiva no siempre implica acortamiento de la supervivencia eritrocitaria.
- b. Con o sin acortamiento de la vida eritrocitaria una Prueba de Antiglobulina Directa positiva puede responder a:
  - Presencia de autoanticuerpos contra antígenos eritrocitarios intrínsecos
  - Aloanticuerpos circulantes del receptor, que reaccionan con los antígenos presentes en los glóbulos rojos recientemente transfundidos.
  - Aloanticuerpos del plasma, derivados plasmáticos o sanguíneos del donante, que reaccionan con los antígenos eritrocitarios del receptor.
  - Aloanticuerpos en la circulación materna, que atraviesan la placenta y recubren los glóbulos rojos fetales.
  - Anticuerpos dirigidos contra ciertas drogas, que se fijan a la membrana eritrocitaria (Ej. Penicilina)
  - Proteínas absorbidas incluyendo inmunoglobulinas, acompañado de hipergammaglobulinemias o en receptores de altas dosis de gammaglobulinemia endovenosa o la modificación de la membrana eritrocitaria por ciertas drogas, en particular del grupo de las cefalosporinas.
  - Complemento fijado a los glóbulos rojos. Esto puede ocurrir a causa de la activación del complemento por aloanticuerpos, autoanticuerpos, drogas o infección bacteriana.

- Anticuerpos producidos por linfocitos pasajeros portados por órganos o componentes hematopoyéticos trasplantados.

c. Los resultados positivos se expresarán en los siguientes grados de aglutinación

<b>Grados de reacción</b>	<b>Descripción de la aglutinación</b>
<b>4+</b>	Un botón sólido de eritrocitos que puede romperse en 2 ó 3 grumos grandes sin glóbulos libres, fondo claro.
<b>3+</b>	Un grumo grande y algunos más pequeños o varios grumos de regular tamaño, fondo claro.
<b>2+</b>	Muchos grumos de regular tamaño y eritrocitos libres, fondo ligeramente turbio.
<b>1+</b>	Muchos grumos pequeños y gran cantidad de eritrocitos libres, fondo turbio.
<b>+(más/menos) ó ½ +</b>	Algunos grumos muy pequeños, la mayoría de los glóbulos rojos libres, fondo turbio.
<b>Negativo</b>	No hay aglutinación. Todos los eritrocitos libres.

Patrones de reacción con Suero de Coombs monoespecífico

<b>Reactivos monoespecíficos</b>	1	2	3	4
Anti Ig G	+	+	-	-
Anti C3	-	+	+	-

d. El grado de investigación de la Prueba de Antiglobulina Directa positiva depende de la clínica, por lo que diálogo con el médico tratante es esencial.

- La interpretación de los hallazgos serológicos obliga a conocer el diagnóstico, los antecedentes terapéuticos, gestacionales y transfusionales recientes y la información referente a la presencia de anemia hemolítica adquirida o inexplicable.
- Los resultados de los estudios serológicos no son diagnósticos, su relevancia debe examinarse junto con los datos clínicos y de laboratorio (hematocrito, bilirrubina, haptoglobina y el recuento de reticulocitos)

- e. Para evaluar una Prueba de Antiglobulina Directa positiva se dispone de tres enfoques útiles:
- Analizar las células positivas con suero de Coombs monoespecífico Anti – IgG y Anti – C3d para caracterizar los tipos de proteínas que recubren los glóbulos rojos.
  - Analizar el suero/plasma para detectar antígenos eritrocitarios significativos
  - Examinar el eluido preparado a partir de los glóbulos rojos recubiertos, con un panel de células reactivas para establecer si las proteínas que recubren los glóbulos rojos tienen actividad de anticuerpos eritrocitarios.
    - Cuando las proteínas son fracciones del complemento los eluidos con frecuencia no son reactivos. (Fonseca H. A., Procedimiento de inmunohematología de medicina transfusional en la prueba de coombs directa, 2011)

## **8. PRUEBA CRUZADA MAYOR**

### **OBJETIVO:**

- Describir cómo se realiza la Prueba Cruzada Mayor.

### **ALCANCE:**

- Para todo el personal profesional y técnico o auxiliar de limpieza del Servicio de Medicina Transfusional encargado de ejecutar este procedimiento.

### **RESPONSABILIDAD:**

- Cada funcionario (profesional o técnico encargado de las actividades de laboratorio de inmunohematología del Servicio de Medicina Transfusional del hospital) será responsable del estricto cumplimiento de este procedimiento.
- Responsable del Servicio de Medicina Transfusional, será el encargado de asegurar los recursos imprescindibles para la realización de éste procedimiento.

- El Responsable de Aseguramiento de la Calidad del Servicio de Transfusión, que valiéndose de las inspecciones y auditorias controlará el cumplimiento de lo establecido en el presente POE.

#### **DOCUMENTOS DE REFERENCIA:**

- Estándares de Medicina Transfusional
- Manual de Procedimientos en Medicina Transfusional

#### **DEFINICIONES:**

- Prueba Cruzada Mayor es un estudio inmunohematológico (prueba de compatibilidad transfusional) cuyo principio es la hemaglutinación, para determinar la compatibilidad de la sangre del receptor con los hematíes a transfundir, al enfrentar los glóbulos rojos de la unidad de sangre (tomadas de un segmento del tubo de la bolsa que contiene una unidad de sangre total o de glóbulos rojos) con el suero del paciente o receptor. Este tipo de prueba de compatibilidad es fundamental para garantizar la ausencia de anticuerpos séricos en el paciente capaces de reaccionar con los antígenos de los glóbulos rojos que serán transfundidos. La evaluación se lleva a cabo en tubos a temperatura ambiente para identificar la incompatibilidad ABO y a 37°C para reconocer los anticuerpos IgG mediante una prueba de inmunoglobulinas indirecta.
  - El método utilizado para la prueba cruzada debe mostrar incompatibilidad ABO o por anticuerpos clínicamente significativos diferentes al ABO; entre el receptor y la unidad a transfundir al igual que la presencia de anticuerpos clínicamente significativos. Por eso debe incluir siempre la fase de antiglobulina humana.

#### **LOCALES, EQUIPAMIENTOS, MATERIALES, REACTIVOS E INSUMOS:**

- Local: Servicio de Medicina Transfusional
- Equipamiento:
  - Centrífuga.

- Baño María
- Aglutinoscopio o Lámpara visualizadora
- Materiales e insumos:
  - guantes y demás equipos de protección personal
  - Tubos 75 X 12 mm.
- Reactivos:
  - Albúmina bovina al 22 o 30%.
  - Reactivo de antiglobulina humano (AHG) o Suero de Coombs poliespecífico.
  - Células control de Coombs.

#### **PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO:**

- Es esencial que toda la sangre sea estudiada antes de la transfusión para: asegurar que todos los glóbulos rojos transfundidos son compatibles con los anticuerpos en el plasma del paciente y e Evitar estimular la producción de nuevos anticuerpos contra los glóbulos rojos en el receptor, especialmente anti-Rh D.
- Este estudio laboratorial forma parte de la pruebas de compatibilidad transfusional, que implica el enfrentamiento de los glóbulos rojos del Donante (procedente de la unidad de hemocomponente) con el Suero sanguíneo del paciente o futuro receptor de la transfusión para poder excluir la presencia de anticuerpos en el paciente contra los glóbulos rojos de la unidad de hemocomponente a ser transfundida. Debe ser efectuada antes de cualquier transfusión de sangre total o Concentrado de hematíes. Se basa en la reacción Antígeno – Anticuerpo, los primeros presentes en las glóbulos rojos del donante (unidad de sangre) y los segundos en el suero del paciente).
- Después de realizados los grupos sanguíneos y el escrutinio de anticuerpos la prueba cruzada tiene la finalidad de detectar incompatibilidades ABO donante-receptor o anticuerpos dirigidos contra antígenos eritrocitarios de baja frecuencia presentes en el donante pero no en las células de pesquizaje.

## **PROCEDIMIENTO:**

### **FASE SALINA.**

- Añadir 2 gotas de suero del paciente a cada uno de los tubos
- Añadir 1 gota de suspensión de hematíes del donante al 4 % (procedentes de la unidad de sangre) al tubo paciente y 1 gota de suspensión de hematíes del paciente al tubo autocontrol.
- Mezclar suavemente
- Centrifugar 15 segundos de 1000 rpm
- Observar la presencia de aglutinación o hemólisis.
  - En su presencia, la sangre es incompatible.
  - Si no se observan señales de hemólisis ni aglutinación se debe proceder a realizar la siguiente fase: (Empleo de Albúmina)

También se puede emplear a este nivel del estudio como elemento potenciador LISS (solución salina de baja fuerza iónica):

- a. Agregar 3 gotas de LISS, mezclar e incubar a 37°C durante 10 a 15 minutos.
- b. Examinar el tubo en busca de hemólisis y/o aglutinación. En su presencia, la sangre es incompatible. En su ausencia continuar el estudio con la siguiente fase (Empleo de Albúmina).

### **FASE ALBÚMINA.**

- Añadir 1 gota de albúmina bovina polimerizada del 22 a 30%.
  - Las moléculas cargadas grandes como la albúmina, aproximan los glóbulos rojos, de manera que los anticuerpos IgG pueden fijarse a los antígenos de células adyacentes y formar aglutinados.
  - Si los eritrocitos no están recubiertos de anticuerpos, la albúmina no actúa.
- Incubar a 37°C durante 30 minutos.

- Si después de la incubación del suero del receptor y hematíes del donante a 37° C durante 30 minutos la lectura del resultado es negativa proceda con la siguiente fase:

#### **FASE DE ANTIGLOBULINA.**

- Lavar los glóbulos rojos los hematíes, descartar el sobrenadante totalmente del último lavado de manera que no quede resto de solución salina.
- Añadir 2 gotas del suero antiglobulina humana al sedimento de hematíes obtenido.
- Centrifugar 15 segundos a 1000 rpm
- Observar la presencia de aglutinación o hemólisis.
- Anotar los resultados en Libro de Registro de Servicio Transfusional.

A la reacciones negativas añade Células Control de Coombs como control del procedimiento.

- Centrifugar 15 segundos a 1000 rpm
- Se debe observar un resultado positivo. De no dar positivo la prueba deberá repetirse.
- Anotar los resultados en el Libro de registro del Servicio Transfusional.

Si se confirma que los resultados son negativos, la sangre es compatible y después de completar la documentación y rotulación pertinente, puede entregarse para transfusión.

#### **INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS:**

- La presencia de aglutinación/hemólisis en cualquiera de las fases constituye una reacción positiva.
- Las pruebas antiglobulinas son negativas cuando no se observa aglutinación después de la centrifugación inicial y las células revestidas con IgG agregadas después son aglutinadas.
  - Si no son aglutinadas, el resultado negativo es inválido y la prueba debe ser repetida. (Fonseca H. A., PRUEBA CRUZADA MAYOR, 2011)



## **4.7 Tratamiento**

### **4.7.1 Transfusión uterina**

Una transfusión intrauterina proporciona sangre a un feto Rh positivo cuando los glóbulos rojos fetales están siendo destruidos por anticuerpos Rh.

Se hace una transfusión de sangre para sustituir los glóbulos rojos fetales que están siendo destruidos por el sistema inmunitario de la madre que tiene sensibilización al Rh. Este tratamiento tiene como objetivo mantener sano al feto hasta que esté lo suficientemente maduro para nacer.

Las transfusiones pueden administrarse a través del abdomen fetal o, más frecuentemente, suministrando la sangre dentro de la vena o la arteria umbilicales. La transfusión por un vaso sanguíneo del cordón umbilical es el método preferido, porque permite una mejor absorción de la sangre y tiene un índice de supervivencia más alto que la transfusión hecha a través del abdomen. (Healthwise, 2020)

### **4.7.2 Fototerapia**

Ha sido utilizada para la reducción de la bilirrubina sérica elevada así como para la prevención de la hiperbilirrubinemia en el recién nacido prematuro. La fototerapia intensiva logra disminuir los niveles de bilirrubina a una velocidad de 1- 2 mg/dl de cada 4-6 horas sus indicaciones dependen de la edad y madurez del recién nacido generalmente debe aplicarse cuando los niveles de bilirrubina sérica están entre 250-300 umol/L. (Cortes, 2012)

Este método ha reducido apreciablemente la necesidad de exanguinotransfusión. Debe tenerse presente que el tratamiento con fototerapia puede haber un factor de deshidratación por lo que es fundamental cuidar el estado de deshidratación de estos niños. La hiperbilirrubinemia debe de manejarse tomando en cuenta los niveles de bilirrubina sérica, las horas de vida la madurez del recién nacido(a término y pre terminó) y su condición de sano a enfermo. No es efectiva cuando la hem (rh') o lisis es severa y los niveles de bilirrubina se incrementan rápidamente.

### 4.7.3 Exanguinotransfusión

Se emplea en el tratamiento de la Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido severa corrige la anemia, elimina los hematíes unidos a las inmunoglobulinas, así como las inmunoglobulinas libres y reduce la carga de bilirrubina al remover los productos liberados por la hemólisis eritrocitaria. (Cortes, 2012)

El mayor problema de la exanguinotransfusión en la Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido es la selección de la sangre adecuada. Como la madre y el niño pueden pertenecer a grupos ABO distintos, normalmente se utilizan hematíes del grupo O. Si el anticuerpo problema es anti-D, los hematíes tienen que ser Rh negativos. No obstante, no todas las exanguinotransfusiones requieren sangre O negativa.

Si la madre y el niño tienen el mismo grupo ABO, pueden utilizarse hematíes isogrupo y si el anticuerpo problema no es anti-D, los hematíes administrados deben ser carentes del antígeno problema. Para realizar las pruebas de compatibilidad antes de la exanguinotransfusión, se pueden utilizar suero o plasma tanto de la madre como del hijo.

El suero materno tiene la ventaja de su mayor disponibilidad en cuanto a volumen, mayor concentración de anticuerpos y la posibilidad de analizarse totalmente antes del nacimiento, aunque debe tenerse presente que puede contener anticuerpos frente a antígenos distintos presentes en los hematíes del niño, o anticuerpos IgM que no atraviesan la placenta. Ni el suero del niño, ni el eluido son ideales para pruebas de compatibilidad, ya que el suero puede tener un número insuficiente de moléculas de aloanticuerpos y el eluido puede no contener otros aloanticuerpos presentes en la sangre de la madre para antígenos no presentes en los hematíes del recién nacido y sí presentes en la sangre a transfundir.

El nacimiento, interrumpe la comunicación entre la circulación materno-fetal y el hígado inmaduro del lactante es incapaz de conjuguar la cantidad de bilirrubina resultante de la destrucción de los glóbulos rojos recubiertos con anticuerpos. La bilirrubina no conjugada es tóxica para el sistema nervioso central en desarrollo y la decisión de recurrir a la exanguinotransfusión se basa en el nivel de bilirrubina, su tasa de acumulación y, en menor grado, la magnitud de la anemia.

El recambio del volumen sanguíneo determinado (sangre total o reconstituida) en pequeñas fracciones bajas estrictas técnicas estéril y monitoreo de los signos vitales constantes, es una técnica que se utiliza principalmente para mantener la bilirrubina sérica por debajo de los valores de los niveles de neurotoxicidad y es aplicada con mayor frecuencia a los neonatos con problemas de la enfermedad hemolítica del recién nacido.

#### **4.8 Relación médico bioanalista**

Al aplicar las entrevistas correspondientes a los especialistas en el tema, ambos opinan que la eritroblastosis fetal es una patología que se da en recién nacido en donde los anticuerpos de la madre daña los eritrocitos del bebe que se puede dar por incompatibilidad ABO y por incompatibilidad Rh, en esta última en el primer embarazo puede no tener síntomas el neonato, la patología que desarrolla el bebé es ictericia neonatal, ya en el segundo embarazo presentan anemia. Como tratamiento recomiendan en primera instancia las transfusiones de sangre en útero y fototerapia cuando nace, control de bilirrubinas, de último se deja la opción de exsanguinotransfusión. Al final ambos especialistas consideraron que la incompatibilidad más frecuente es ABO.

## **V. Metodología**

### **5.1 Tipo de investigación**

Tipo de investigación documental de enfoque cualitativo; donde se investigó sobre el tema de Enfermedad hemolítica del recién nacido por incompatibilidad ABO, utilizando como referencia revista científica, libros, documentos y páginas web con el fin de recolectar la información actualizada, relevante y de interés.

### **5.2 Área de estudio**

El área de estudio para el soporte específico de esta investigación es la Inmunohematología, área que estudia las propiedades antigénicas de los elementos figurado de la sangre, siendo el aspecto de la inmunohematología el estudio de la incompatibilidad sanguínea en este caso de la madre y el recién nacido.

### **5.3 Técnicas e instrumentos de recolección de información.**

La información fue recolectada de fuentes secundarias; se consultó libros de inmunohematología, de medicina transfusional, revistas, sitios web, artículos de interés sobre el tema, así mismo se realizó entrevistas a especialistas en el tema, además se elaboró un bosquejo para el desarrollo del subtema de forma ordenada para una mejor comprensión.

### **5.4 Procesamiento de la información y análisis**

El procesamiento de la información y análisis recolectada se utilizaron herramientas de informáticas para el desarrollo de texto programa de Microsoft Word 2013, así como el programa de Microsoft Power Point 2013 para realizar las diapositivas para la exposición final.

### 5.5 Consideraciones éticas.

En el proceso de investigación para llevar a cabo este seminario de graduación no se empleó ninguna técnica que conllevara riesgos, ni que afectaran directamente a alguna persona, ni que violaran los principios éticos de la investigación. Siendo los datos obtenidos confiable y fidedigno de tal forma que sean procesados y divulgados en un informe final.

### 5.6 Procesamiento del análisis de la entrevista

Entrevistados	Investigador
<p>1. ¿A los cuanto meses gestacionales se comienza a presentar síntomas en la madre?</p> <p>La madre no presenta ningún síntoma en esta patología. Dr. Manuel Ruiz (Gineco/Obstetra)</p> <p>2. ¿Qué tipo de patología se desarrolla en el bebé?</p> <p>La patología que desarrolla el bebe es ictericia neonatal. Ya en el segundo embarazo presentan anemia, edema, hidropesía fetal diagnosticado por ultrasonido este último. Puede ocurrir muerte fetal. Dr. Manuel Ruiz (Gineco/Obstetra)</p> <p>3. ¿Qué tipo de incompatibilidad es más frecuente?</p> <p>Incompatibilidad ABO. Dr. Manuel Ruiz (Gineco/Obstetra). Lic. Aracelys Reyes.</p> <p>4. ¿Una transfusión intrauterina es recomendada para tratar esta incompatibilidad?</p>	<p>1. Según nuestra investigación la madre no presenta algún tipo de síntomas.</p> <p>2. Esta se presentan en manifestaciones clínicas antes y después del parto. Entre algunas patologías tenemos anemia, ictericia, hepatomegalia, hidropesía fetal y Kernícterus.</p> <p>3. En cuanto a nuestra investigación se encontró que un 70% la incompatibilidad ABO es las frecuentes entre las embarazadas.</p> <p>4. La transfusión uterina que es muy recomendable, ya que sustituye los eritrocitos fetales que están siendo destruido por el sistema inmunitario de la madre.</p> <p>5. Se sabe que existe muchos tipos de incompatibilidad, bien se puede dar por incompatibilidad ABO, Rh e incompatibilidad por otro tipos de</p>

<p>Si. Transfusiones de sangre en útero es tratamiento y fototerapia cuando nace. Dr. Manuel Ruiz (Gineco/Obstetra)</p> <p>5. ¿Este tipo de incompatibilidad solo afecta a madre con Rh negativo?</p> <p>No. Hay incompatibilidad de grupo ABO. Dr. Manuel Ruiz (Gineco/Obstetra)</p> <p>6. ¿Cuáles es el tratamiento más óptimo para tratar esta enfermedad?</p> <p>Fototerapia continua, y control de bilirrubinas. De último se deja la opción de exsanguinotransfusión. Dr. Manuel Ruiz (Gineco/Obstetra)</p> <p>7. ¿Qué probabilidad tiene la madre de perder a su hijo?</p> <p>Las probabilidades dependen de las segundas o terceras gestaciones ya que en la primera no hay problemas. Si se adoptan medidas como las vacunas se evitaban complicaciones en los otros embarazos, en lo que respecta al RH. Dr. Manuel Ruiz (Gineco/Obstetra)</p> <p>8. ¿Qué vía de parto es la más apta?</p> <p>La que el ginecólogo considere sea la más óptima. (Puede nacer vía vaginal o abdominal).Dr. Manuel Ruiz (Gineco/Obstetra)</p> <p>9. ¿Cómo realizar el procedimiento de una exsanguinotransfusión?</p> <p>Por vena umbilical o arterial, medir presión, volumen de alícuotas menores de 1,500 gr, utilizar recambio de 5 CC, en 1,500 y 2,500 gr</p>	<p>antígeno.</p> <p>6. Entre los tratamiento más recomendable tenemos transfusión uterina durante el embarazo, la fototerapia después del parto: cuando se tiene valores sobre encima de los valores normales de bilirrubina. Así mismo la exsanguinotransfusión cuando los valores sobre pasan los 20 mg/Dl esto es al recién nacido.</p> <p>7. Si no es tratada a tiempo durante el embarazo puede llegar a perderlo por muerte intrauterina. En recién nacido muy poca posibilidad que muera.</p> <p>8. Bien se puede optar por las 2 vías de parto: vaginal u abdominal.</p> <p>9. Se debe:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Canalizar vena umbilical u arterial.</li> <li>• Medir presión venosa central.</li> <li>• Conectar llave de 4 pasos que traer el kit de ET.</li> <li>• El volumen de alícuota en menores de 1,500 gr, utilizar recambio de 5 CC o menos. Entre 1,500 y 2,500 gr recambio de 10 CC, entre 2,500 y 3,500 gr recambio de 20 CC. Es aconsejable que el proceso sea lento (5mL/kg por minuto)</li> <li>• Cada 10 y 15 minuto agitar la sangre para evitar el sedimento de los hematíes.</li> </ul>
---	---

<p>recambio de 10 CC, 2,500 y 3,500 gr recambio de 20 CC. El proceso deberá ser lento, se deberá agitar la sangre cada 10 y 15 minutos para evitar el sedimento de los eritrocitos, puede haber posibilidad de alteraciones de las coagulaciones</p> <p>10. ¿Qué importancia tiene el tipo y Rh del padre?</p> <p>La posibilidad de padecer la enfermedad incrementa si el padre tiene RH positivo grupo O, en lo que respecta a incompatibilidad RH. Dr. Manuel Ruiz (Gineco/Obstetra)</p> <p>11. ¿Qué exámenes se utiliza para el diagnóstico en esta incompatibilidad?</p> <p>Coombs Directo (bebe) Coombs Indirecto (madre) Tipo y Rh del padre, madre y del bebe. Lic. Aracelys Reyes.</p> <p>12. ¿Qué tipo de hemocomponente se utiliza para realizar una exanguinotransfusión?</p> <p>Paquete Globular O con menos de 72Hrs de extraída. Plasma fresco congelado AB. Lic. Aracelys Reyes.</p> <p>13. ¿Qué parámetro en las bilirrubinas es considerado para decidir una fototerapia?</p> <p>Valores elevados del valor normal de las bilirrubinas. Lic. Aracelys Reyes.</p> <p>14. ¿Cómo es el procedimiento para preparar sangre total reconstituida?</p> <p>Tipificación.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Monitorear el pH, bicarbonato, glicemia, calcio y potasio con frecuencia.</li> <li>• El uso de profilaxis antibiótica debe ser valorado según cada caso.</li> <li>• Tener en cuenta la posibilidad de alteraciones de las coagulaciones</li> </ul> <p>10. En el caso de incompatibilidad por Rh el padre sea Rh positivo y las madre Rh negativo hay un mayor incremento de padecer esta enfermedad. Y en la incompatibilidad ABO si la madre es O y el padre A o B, también se tiene mayor posibilidad de que él bebe padezca esta enfermedad.</p> <p>11. Primero el grupo sanguíneo y Rh, luego el Coombs Directo, el Coombs Indirecto, Bilirrubina y las pruebas de incompatibilidad.</p> <p>12. Sangre total o reconstituida, preferiblemente O negativa.</p> <p>13. En la fototerapia se aplica cuando el recién nacido tiene valores muy por encima de 5 mg/dL</p> <p>14. Primero se realiza lo que es el grupo y Rh, se trabaja con un paquete globular O, para realizarle la prueba cruzada mayor. Y al plasma se descongela de una manera segura para evitar posible contaminación, se procede a mezclar y no esperar mucho</p>
--	---

<p>Paquete O.</p> <p>Prueba cruzada mayor con paquete O.</p> <p>Prueba cruzada menor con paquete AB.</p> <p>Luego descongelar el plasma a través de una bolsa transfer, en un ambiente limpio libre de bacterias utilizando un mechero y guantes.</p> <p>Posteriormente se mezcla, no se puede dilatar más de 2 hora. Lic. Aracelys Reyes.</p> <p>15. ¿Cuál puede ser el resultado de las pruebas de Coombs?</p> <p>Prueba de Coombs Directa positiva con 3+.</p> <p>Ya que detecta los anticuerpos que están causando la enfermedad. Lic. Aracelys Reyes.</p> <p>16. ¿Con que frecuencia se realizan estos tipos de exámenes?</p> <p>Muy frecuente, esto va a variar en dependencia del diagnóstico de la madre y el feto o recién nacido. Lic. Aracelys Reyes.</p>	<p>tiempo para ser administrado.</p> <p>15. En esta enfermedad se espera un Coombs directo positivo que puede identificar incompatibilidad ABO y Rh, y está asociada significativamente con hiperbilirrubinemia severa</p>
--	--



## VI. Conclusiones

La enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN) es una afección inmunológica autoinmunitaria en la cual la vida del hematíe está acortada como resultado de la acción de anticuerpos maternos que pasaron a través de la placenta y que son específicos contra antígenos de origen paterno presentes en las células rojas del recién nacido.

El grupo sanguíneo y Rh que representa mayor porcentaje de incompatibilidad en la EHRN según bibliografías estudiadas podemos mencionar: aproximadamente con un 70% el sistema ABO, 20% para sistema Rh y un 10% ambos sistemas.

Entre las manifestaciones clínicas que se presentan con mayor frecuencia ante la EHRN podemos mencionar: anemia, ictericia, hepatomegalia, hidropesía fetal y Kernícterus.

Las técnicas prenatales y postnatales empleadas que se realizan para el análisis de la enfermedad hemolítica del recién nacido fueron: Determinación de Grupo Sanguíneo ABO y Rh, Bilirrubinas, Coombs Directo, Coombs Indirecto y prueba cruzada mayor.

Los criterios prenatales y posnatales de manejo y profilaxis en el diagnóstico de la enfermedad hemolítica del recién nacido fueron: Transfusión intrauterina, administración de inmunoglobulina anti-D, fototerapia y exanguineotransfusión.

Dando respuesta a nuestro último objetivo se precedió a la realización de entrevistas al personal de salud conocedores en el tema donde se relacionaron ambas opiniones llegando a una conclusión de que la incompatibilidad sanguínea ABO es la más común. Como tratamiento recomiendan en primera instancia las transfusiones de sangre en útero y fototerapia cuando nace, control de bilirrubinas, de último se deja la opción de exanguineotransfusión.

En relación a lo antes expuesto, llegamos a la satisfacción de haber cumplido con nuestro objetivos propuesto, así mismo dándole repuesta a cada una ellos.

## VII. Referencias bibliográficas

- Alvaro Insunza F., E. B. (2011). Enfermedad hemolítica perinatal: manejo de la. *Revista chilena de obstetrica y ginecologia*, 188-190. Obtenido de Enfermedad hemolítica perinatal: manejo de la embarazada RhD negativo.
- Baltodano Keyla, y. o. (27 de Febrero de 2015). *UNAN Managua Monografia*. . Obtenido de <https://repositorio.unan.edu.ni/1052/1/9279.pdf>
- Barrera Andocilla, M. F. (17 de julio de 2014). *escuela superior politecnica de Chimborazo*. Obtenido de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/3444>
- Buelvas, A. M. (2014). *Inmunohematología básica y aplicada*.
- Case-Lo, C. (2010). *AARP*. Obtenido de [https://healthtools.aarp.org/es/health/analisis-de-bilirrubina-en-la-sangre#:~:text=Los%20valores%20normales%20de%20bilirrubina%20total%20\(directa%20e%20indirecta\)%20son,inferiores%20a%205%20mg%2Fdl](https://healthtools.aarp.org/es/health/analisis-de-bilirrubina-en-la-sangre#:~:text=Los%20valores%20normales%20de%20bilirrubina%20total%20(directa%20e%20indirecta)%20son,inferiores%20a%205%20mg%2Fdl).
- CHOQUEPATA, R. S. (2013). *Revista peruana*. Obtenido de <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/4061/MDmachrs.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Cortés, a. (2012). *Aplicaciones y Práctica de la medicina transfusional*. santiago, chile.
- Cortes, D. V. (2012). *diagnostico y tratamiento de la enfermedad hemolitica por insoimmunizacion a rh en recién nacidos*. mexico.
- Daniels, G. (abril de 2013). *Human Blood Groups*. Obtenido de <https://www.wiley.com/en-us/Human+Blood+Groups%2C+3rd+Edition-p-9781444333244>
- Fonseca, H. A. (2011). Determinacion de grupo sanguineo ABO prueba reserva metodo en tubo. managua,nicaragua .
- Fonseca, H. A. (2011). Procedimamiento de inmunohematologia de medicina transfusional en la prueba de coombs directa. managua,nicaragua .
- Fonseca, H. A. (2011). Procedimiento de inmunohematologia en medicina transfusional para preparacion de celulas A. MANAGUA, NICARAGUA.
- Fonseca, H. A. (2011). Procedimiento de inmunohematologia de medicina transfusional en la determinacion de grupo sanguineo RhD metodo en tubo. managua,nicaragua .

- Fonseca, H. A. (2011). Procedimiento de inmunohematología en medicina transfusional para preparación de células B. MANAGUA, NICARAGUA.
- Fonseca, H. A. (2011). Procedimiento de inmunohematología en medicina transfusional de la determinación de grupo sanguíneo ABO prueba directa método en tubo. managua, nicaragua.
- Fonseca, H. A. (2011). Procedimiento de inmunohematología en medicina transfusional en la preparación de células control de coombs. managua, nicaragua.
- Fonseca, H. A. (2011). PRUEBA CRUZADA MAYOR. managua, nicaragua.
- Fuenzalida, J. &. (2014). manejo de embarazada con ispinmunización por anticuerpos irregulares. *Revista chilena de obstetricia y ginecología.*, 315-322.
- genetico, M. (29 de octubre de 2012). Obtenido de obtenido de <http://elmundoge.blogspot.com/>
- healthwise, E. p. (23 de septiembre de 2020). *Cigna*. Obtenido de <https://www.cigna.com/individuals-families/health-wellness/hw-en-espanol/pruebas-medicas/recuento-de-reticulocitos-hw203366>
- Healthwise, E. p. (11 de febrero de 2020). *cigna*. Obtenido de <https://www.cigna.com/individuals-families/health-wellness/hw-en-espanol/temas-de-salud/transfusion-sanguinea-fetal-intrauterina-para-la-hw149929#:~:text=Una%20transfusi%C3%B3n%20intrauterina%20proporciona%20sangre,siendo%20destruidos%20por%20anticuerpos%2>
- herrera, c. p. (23 de agosto de 2016). *Slideshare*. Obtenido de <https://es.slideshare.net/CristinaPeaherreraLo/enfermedad-hemolítica-del-feto-y-el-recin-nacido#:~:text=Definici%C3%B3n%3A%20Es%20una%20afecci%C3%B3n%20inmunol%C3%B3gica,a,rojas%20fetales%20y%20del%20reci%C3%A9n>
- Houston, B. G. (2015). Severe Rh alloimmunization and hemolytic disease of the fetus managed . *Transfusion and Apheresis Science*, 1-4.
- Instituto nacional del cancer* . (agosto de 2013). Obtenido de <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionario/def/frotis-de-sangre-periferica>
- Laboratorio clinico, imagenología diagnóstica, consulta general y banco de sangre* . (JULIO de 2015). Obtenido de [https://www.laboratoriosbsh.com/biometria-hematica-completa/#:~:text=La%20biometr%C3%ADa%20hem%C3%A1tica%20completa%20\(BHC,Checar%20Anemias](https://www.laboratoriosbsh.com/biometria-hematica-completa/#:~:text=La%20biometr%C3%ADa%20hem%C3%A1tica%20completa%20(BHC,Checar%20Anemias)
- Lara Marlon, S. N. (marzo de 2017). *aplicación del diagnóstico inmunohematológico del banco de sangre* . Obtenido de file:///C:/Users/COMPAQ/Downloads/97654%20(1).pdf
- Markham, K. S. (2016). Enfermedad hemolítica del feto y del recién nacido por consumo de drogas intravenosas. *American Journal* , 129-132.

narvaez, I. e. (2019). poe de inmunohematologia. jinotepe.

Özgönenel, B. K. (2015). Neonatal BO Incompatibility Is Associated With a Positive Cord Blood Direct Antiglobulin Test in Infants of Black Ethnicity. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, 453-457.

pico. (2011). Obtenido de file:///C:/Users/admin/Downloads/Documents/80117857.pdf

Rodríguez de la Rúa A, H. D. (2004). *Enfermedad hemolítica del recién nacido. hae-matologica* . (ed esp), volumen 89.

Rosales, D. M. (2000). *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*. Obtenido de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892000000300002](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892000000300002)

Torres, D. O. (junio de 2009). *ENFERMEDAD ENFERMEDAD*. Obtenido de file:///C:/Users/admin/Downloads/Documents/CA9%20DIAGNOSTICO%20Y%20PREVENCION%20DE%20EHP%20Oscar%20Torres.pdf

Vega, B. J. (marzo de 2017). *“Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido Por Incompatibilidad ABO”*. Obtenido de file:///C:/Users/DELL/Downloads/ABO.pdf

## VIII. Anexos



### **Facultad Regional Multidisciplinaria de Carazo.**

#### **FAREM-CARAZO**

#### **DEPARTAMENTO DE CIENCIA, TECNOLOGIA Y SALUD**

Como estudiantes de V año de la carrera de Bioanálisis Clínico de la UNAN FAREM-Carazo, nos hemos planteado como objetivo: obtener información necesaria para describir el diagnóstico de la enfermedad hemolítica del recién nacido por incompatibilidad ABO. Para ello realizaremos la siguiente entrevista con la que pretendemos validar la información brindada.

#### **Doctor**

1. ¿A los cuanto meses gestacionales se comienza a presentar síntomas en la madre?
2. ¿Qué tipo de patología se desarrolla en el bebé?
3. ¿Qué tipo de incompatibilidad es más frecuente?
4. ¿Una transfusión intrauterina es recomendada para tratar esta incompatibilidad?
5. ¿Este tipo de incompatibilidad solo afecta a madre con Rh negativo?
6. ¿Cuáles es el tratamiento más óptimo para tratar esta enfermedad?
7. ¿Qué probabilidad tiene la madre de perder a su hijo?
8. ¿Qué vía de parto es la más apta?
9. ¿Cómo realizar el procedimiento de una exanguinotransfusión?
10. ¿Qué importancia tiene el tipo y Rh del padre?



## **Facultad Regional Multidisciplinaria de Carazo.**

### **FAREM-CARAZO**

#### **DEPARTAMENTO DE CIENCIA, TECNOLOGIA Y SALUD**

Como estudiantes de V año de la carrera de Bioanálisis Clínico de la UNAN FAREM-Carazo, nos hemos planteado como objetivo: obtener información necesaria para describir el diagnóstico de la enfermedad hemolítica del recién nacido por incompatibilidad ABO. Para ello realizaremos la siguiente entrevista con la que pretendemos validar la información brindada

#### **Bioanalista Clínico**

1. ¿Qué exámenes se utiliza para el diagnóstico en esta incompatibilidad?
2. ¿Qué tipo de hemocomponente se utiliza para realizar una exanguinotransfusión?
3. ¿Qué parámetro en las bilirrubinas es considerado para decidir una fototerapia?
4. ¿Cómo es el procedimiento para preparar sangre total reconstituida?
5. ¿Cuál puede ser el resultado de las pruebas de Coombs?
6. ¿Qué tipo de incompatibilidad es más frecuente?
7. ¿Con que frecuencia se realizan estos tipos de exámenes?



**Imagen 1. Representación fotográfica de los procesos que se realizan en el banco de sangre.**



**Imagen 2. Representación fotográfica de área de almacenamiento de los hemocomponentes del banco de sangre**



Imagen 3: Esquema grafico que representa un ejemplo de las manifestaciones clínicas que presentan los niños con Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido.

	GRUPO A	GRUPO B	GRUPO AB	GRUPO O
Glóbulos rojos				
Antígenos en los eritrocitos	Antígeno A	Antígeno B	Antígeno A y B	No hay antígenos
Anticuerpos en el plasma sanguíneo	Anti-B	Anti-A	No hay anticuerpos	Anti-A Anti-B

Imagen 4: Representación esquemática del sistema de grupo sanguíneo ABO



## Factor Rh

Blood Type (genotype)	Rh (+)	Rh (-)
Red Blood Cell Surface Proteins (phenotype)	 Rh AGLUTINÓGENO	 NO AGLUTINÓGENO

Imagen 5. Esquema grafico que representa el sistema Rhesus

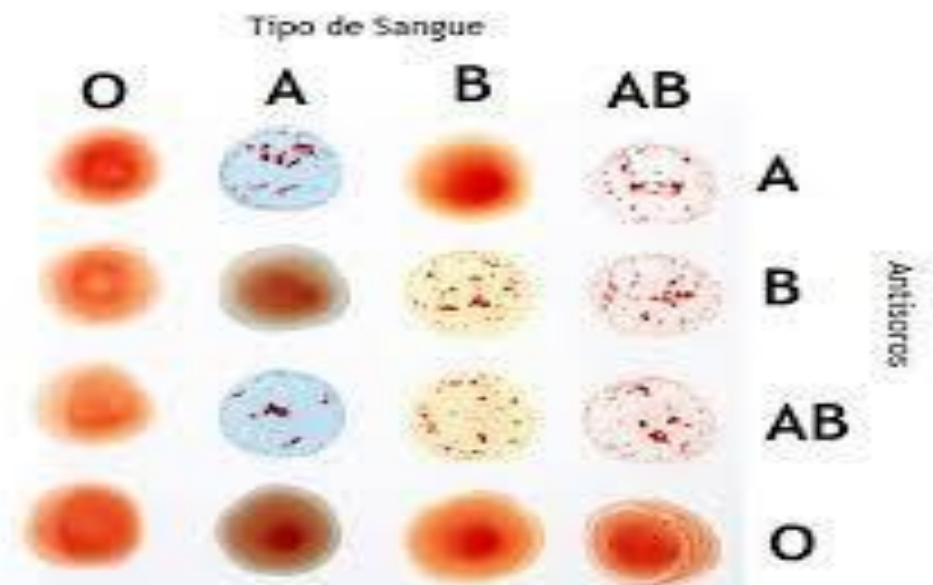
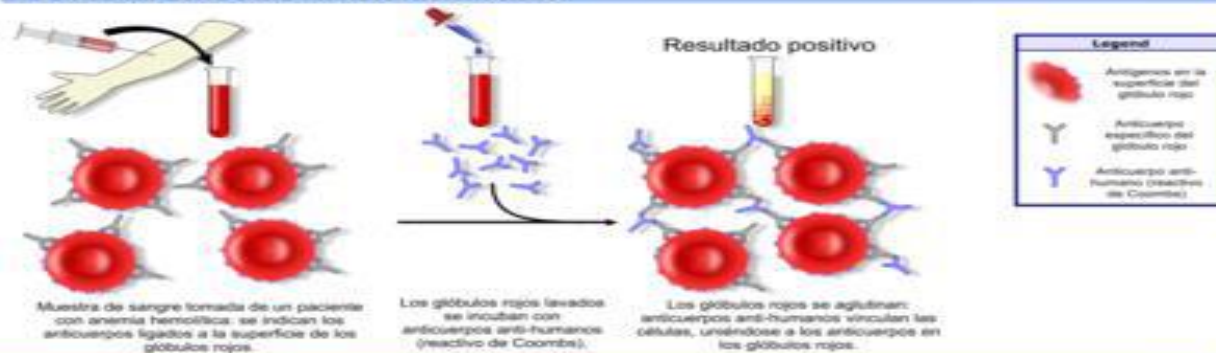


Imagen 6. Representación esquemática de las reacciones de tipificación de los antígenos y anticuerpos del sistema ABO

### Prueba de Coombs directa



### Prueba de Coombs indirecta

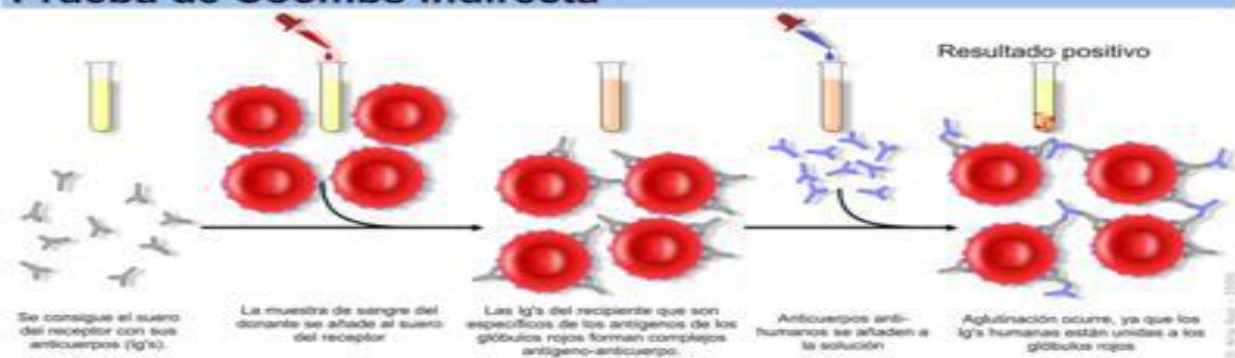
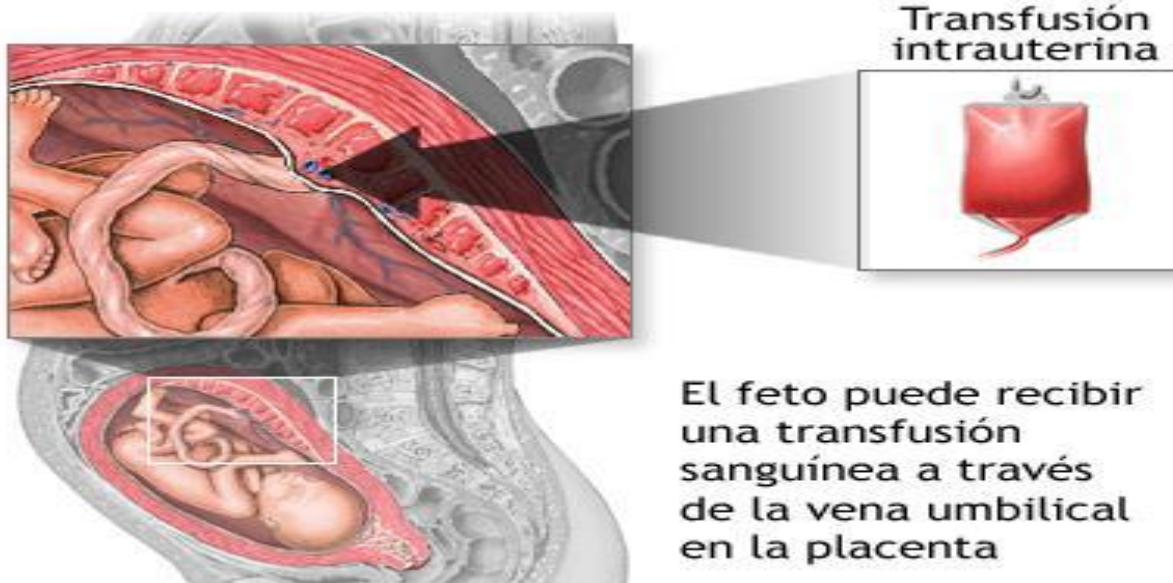


Imagen 7. Representación gráfica de las reacciones producida por las pruebas de Coombs directa y Coombs indirecta.



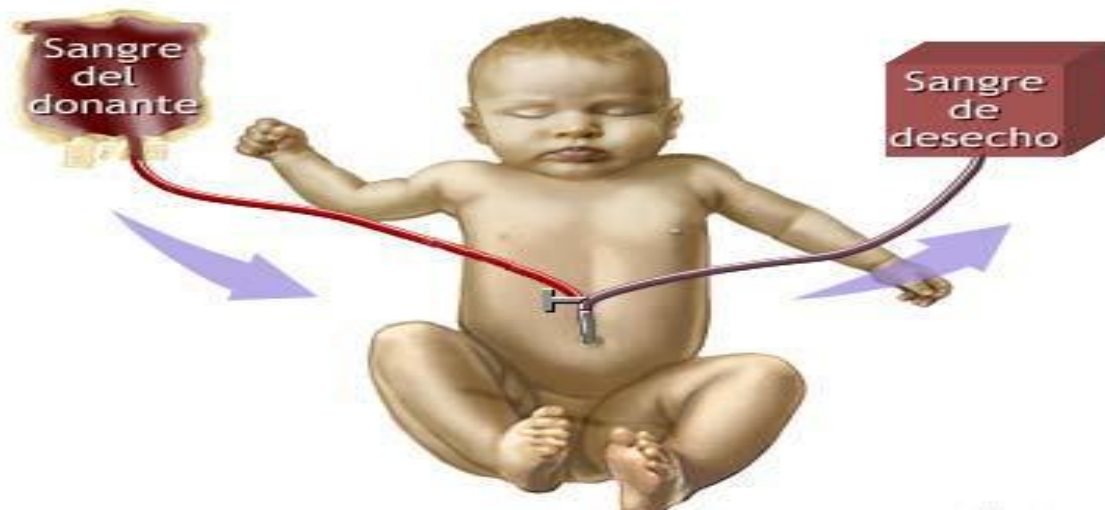
**Imagen 8: esquema ilustrativo de transfusión intrauterina de vena umbilical a través de la placenta.**



**Imagen 9: Esquema ilustrativo de mujer Rh negativo, sensibilizada durante primer parto y reaccionado durante el futuro parto.**



**Imagen 10. Foto de un niño con enfermedad hemolítica del recién nacido recibiendo fototerapia.**



**Imagen 11. Ilustración de un niño con Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido que es sometido a procedimiento de Exanguiotransfusión.**