



enplenitud.com
para jóvenes de cualquier edad...

Sinopsis de las técnicas para bancos de sangre

Rafael Amadeo Mateo Capilla

Sinopsis de las Técnicas de Bancos de Sangre

Rafael Amadeo Mateo Capilla, Tecn. Laboratorio Clínico

Indice:

[Grupo ABO](#)

[El fenotipo Rh-Kell](#)

[La confirmación de antígeno D](#)

[El grupo hemático en tubo](#)

[El grupo sérico en tubo](#)

[La determinación del antígeno D en placa](#)

[La determinación del grupo ABO en placa](#)

[La resolución de discrepancias ABO](#)

[La identificación de Anticuerpos Irregulares](#)

[La investigación de anticuerpos irregulares](#)

[La titulación de anticuerpos. Método en tarjeta](#)

[Las pruebas cruzadas](#)

[Técnica del Coombs Directo](#)

[La técnica del Coombs directo monoespecífico](#)

[Interpretación de la aglutinación](#)

[La determinación del fenotipo del grupo Lewis](#)

[La determinación del grupo MN](#)

[La determinación del grupo P](#)

[La determinación de los grupos acreditados Ss, Kk, KpaKpb, FyaFyb, JkaJkb, LuaLub](#)

[La elución mediante "R-E-S"](#)

[La elución con "Gamma EGA](#)

[La adsorción autóloga de autoanticuerpos calientes](#)

[La hemoglobinuria paroxística nocturna](#)

[Las autoaglutininas frías de títulos elevados](#)

La especificidad de crioaglutininas

La técnica de Donath-Landsteiner

Capítulo 1º. GRUPO ABO

Estudio de análisis

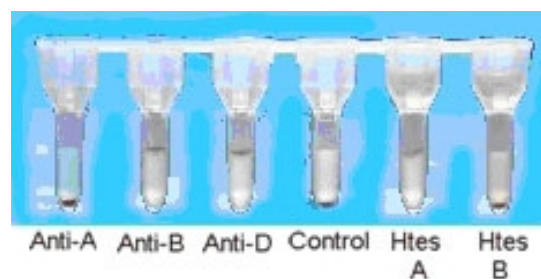
Establecer el grupo ABO (hemático/sérico) y el factor Rh (D) en tarjeta.

Exposicion

1. Identificar la tarjeta con el nombre y apellidos del receptor.
2. Preparar en un tubo debidamente identificado una dilución con 10 μ l de sangre total del paciente y 0.5 ml de Id-Diluent .
3. Situar 50 μ l de la dilución de hematíes en los pocillos con anti-A anti-B, anti-AB, anti-D, anti-CDE y control.
4. Situar 50 μ l de dilución de hematíes comerciales A1 y B en los otros dos pocillos.
5. Ampliar 50 μ l de suero o plasma del paciente en los pocillos de hematíes comerciales.
6. Centrifugar en la centrífuga.
7. Proceder a la lectura.

Disquisición del estudio analítico

- Si el botón de hematíes queda en la parte superior del pocillo indica aglutinación y la lectura es positiva. La gradación sería:



Aquí identificaremos la tarjeta

Fecha

- La presencia de hemólisis indica igualmente positividad.
 - Si el botón de hematíes se deposita en el fondo del pocillo la lectura es negativa.
- Si existe discrepancia entre grupo sérico y hemático habrá que resolverla antes de informar el resultado.

Capítulo 2º. El fenotipo Rh-Kell.

Estudio de análisis

Establecer los antígenos del sistema Rh y Kell (D, C, c, Cw, E, e y Kell).

Exposición de análisis de análisis

1. Identificar una tarjeta DiaClon Rh-subgroups+K con el nombre y apellidos del paciente.
2. Preparar en un tubo debidamente identificado una dilución con 10 µl de sangre total del paciente y 0.5 ml de Id-Diluent 1.
3. Situar 10 µl de la dilución de hematíes en los pocillos con anti-C, anti-c, anti-E, anti-e, anti-K y Control
4. Centrifugar en la centrífuga Diamed.
5. Proceder a la lectura.

Disquisición del estudio analítico

- Si el botón de hematíes queda en la parte superior del pocillo indica aglutinación y la lectura es positiva.
- La presencia de hemólisis indica igualmente positividad.

Si el botón de hematíes baja la lectura es negativa

Capítulo 3º. La confirmación de antígeno D

Estudio de análisis

Establecer el antígeno D

Exposición de análisis de análisis

1. Identificar un tarjeta Diamed anti-D con el nombre y apellidos del paciente.
2. Preparar en un tubo debidamente identificado una dilución con 10 µl de sangre total del paciente y 0.5 ml de Id-Diluent 1.
3. Situar 10 µl de la dilución de hematíes en los pocillos con anti-D y Control
4. Centrifugar en la centrífuga Diamed.
5. Proceder a la lectura.

Disquisición del estudio analítico

Si el botón de hematíes queda en la parte superior del pocillo indica aglutinación y la lectura es positiva.

- La presencia de hemólisis indica igualmente positividad.

Si el botón de hematíes baja la lectura es negativa.

Capítulo 4º. El grupo hemático en tubo

Estudio de análisis

Establecer el grupo ABO en tubo.

Exposición de análisis de análisis

1. Situar una gota de anti-A, anti-B, y anti-AB, en tres tubos limpios y convenientemente rotulados.
2. Ampliar una gota de hematíes problema diluidos en suero salino al 2-5% a cada tubo.
3. Mezclar suavemente agitando el contenido de los tubos y centrifugar durante 20 segundos 3000 rpm
4. Retirar de la centrífuga y resuspender suavemente el sedimento de los hematíes.
5. Examinar la presencia o ausencia de aglutinación y anotar los resultados.

Disquisición del estudio analítico

- La presencia de aglutinación o hemólisis indicará que la reacción es positiva, mientras que una suspensión uniforme de hematíes se considerará como resultado negativo.
- Las discrepancias entre los resultados del grupo ABO hemático y sérico deben resolverse antes de clasificar el grupo ABO del paciente.

Capítulo 5º. El grupo sérico en tubo

ESTUDIO DE ANÁLISIS

Establecer la presencia o ausencia de anti-A y anti-B en el plasma o suero del paciente.

Exposición de análisis de análisis

Utilizaremos hematíes reactivo A1 y B de origen comercial.

Opcionalmente podemos efectuar el grupo sérico utilizando además hematíes A2 y O.

1. Colocar una gota de hematíes reactivo en cada uno de los tubos limpios y rotulados. (A1, A2, B y O).
2. Ampliar dos gotas de suero problema a cada tubo.
3. Agitar suavemente y centrifugar durante 20 segundos a 3000 rpm (900-1000 x g).
4. Examinar los tubos en busca de hemólisis. Resuspender suavemente el sedimento de hematíes y observar la presencia o ausencia de aglutinación. Anotar resultados.

Disquisición del estudio analítico

- **La estampación de aglutinación o hemólisis revelará que** la reacción es positiva, mientras que una suspensión uniforme de hematíes se considerará como resultado negativo.

* Las diferencias entre los resultados del grupo ABO hemático y sérico deben resolverse antes de clasificar el grupo ABO del paciente.

Capítulo 6º. La determinación del antígeno D en placa

Estudio de análisis

Establecer la presencia del antígeno D (Rh).

Exposición de análisis de análisis

1. Colocar una gota de antisuero Anti-D en un porta o placa limpio y rotulado, junto a una gota de sangre del paciente.
2. Colocar una gota de reactivo control (o en su defecto suero fisiológico) junto a otra gota de sangre del paciente, en un segundo porta o en la placa.
3. Mezclar con un palillo limpio formando un círculo de 2-3 cm de diámetro.
4. Colocar los portaobjetos sobre el visor y bascular suave y constantemente para observar la presencia de aglutinación. El máximo de observación es de dos minutos, superado ese tiempo se puede producir un fenómeno de rouleaux, que puede interpretarse erróneamente como aglutinación.

Capítulo 7º. La determinación del grupo ABO en placa.

Estudio de análisis

Efectuar el tipaje ABO en placa o porta.

Exposición de análisis de análisis

1. Identificar el porta o la placa con el nombre y apellidos del paciente (o número de la unidad a tipar)
2. Colocar una gota de Seraclone Anti-A, Anti-B, y Anti-AB.
3. Ampliar una gota de sangre junto a cada gota de

los reactivo y mezclarlo en un área aproximada de 2 cm de diámetro (puede utilizarse para ello palillos higiénicos).

4. Se recomienda hacer la lectura de la posible aglutinación después de 30 a 60 segundos.

Disquisición del estudio analítico

La presencia de aglutinación indica la especificidad AB0.

Capítulo 8. La resolución de discrepancias AB0.

Estudio de análisis

Acordar el grupo ABO cuando no concuerdan el grupo hemático con el grupo sérico.

Disquisición del estudio analítico

Se produce una discrepancia cuando los resultados del grupo hemático y sérico no concuerdan. La interpretación del grupo ABO debe retrasarse hasta que se resuelva la discrepancia.

Los primeros pasos a seguir son:

1. Repetir el grupo hemático y sérico en tubo con los hematíes lavados.
2. Analizar los hematíes frente a anti-A, B, A1.
3. Analizar el suero frente a hematíes A1, A2, B.
4. Ampliar la relación suero/hematíes e incubar 30 minutos a temperatura ambiente. Centrifugar y leer.

Capitulo 9º. La identificación de Anticuerpos Irregulares

Estudio de análisis

Identificar la especificidad (por probabilidades) del anticuerpo que descubrimos con la investigación o escrutinio de anticuerpos irregulares.

Esta técnica, básicamente es similar a la detección de anticuerpos irregulares, con la diferencia de que en este

caso enfrentamos el suero a una batería de 11 células de grupo 0 ampliamente fenotipadas, y cuya reactividad nos indicará la probable especificidad del anticuerpo en estudio.

Exposición de análisis de análisis

1. Extraer del frigorífico las cajas con los paneles comerciales de hematíes papainizados y no papainizados. Comprobar la fecha de caducidad. Dar suavemente varias vueltas a la caja entera con el fin de resuspender los hematíes de cada frasco.
2. Preparar una suspensión de 10 μ L de sangre total del paciente con 0.5 ml de Id-Diluent 1 y otra suspensión de 10 μ L de sangre total del paciente con 0.5 ml de Id-Diluent 2.
3. Rotular : 12 pocillos de tarjeta Diamed CINA 1 al 12, 12 pocillos de tarjeta Diamed LISS/Coombs del 1 al 12, 12 pocillos de tarjeta Diamed CINA del 1P al 12P y 12 pocillos de tarjeta Diamed LISS/Coombs del 1P al 12P.
4. Ampliar a cada pocillo 25 μ L del suero problema.
5. Ampliar: 50 μ L de los hematíes no papainizados del vial 1 a los pocillos rotulado 1 de las tarjetas Neutra y Coombs, y así haremos con todos los viales hasta el rotulado como 11. Al pocillo número 12 de ambas tarjetas ampliaremos 50 μ L de la solución de hematíes del paciente preparada con Id-Diluent 2.
6. Ampliar: 50 μ L de los hematíes papainizados del vial 1 a los pocillos rotulado 1P de las tarjetas Neutra y Coombs, y así haremos con todos los viales hasta el rotulado como 11. Al pocillo número 12 de ambas tarjetas ampliaremos 50 μ L de la solución de hematíes del paciente preparada con Id-Diluent 1.

Capítulo 10°. La investigación de anticuerpos irregulares

Estudio de análisis

Los únicos anticuerpos de grupo que se suelen tener son los anti-A y anti-B. Los demás anticuerpos de grupo no relacionados con el sistema ABO, se les conoce como anticuerpos irregulares. Para detectar estos anticuerpos se enfrenta el suero a estudiar a una serie de hematíes de grupo 0 que poseen la mayoría de antígenos frente a los cuales estos anticuerpos son específicos. Clásicamente cuando esta prueba se utiliza como parte de los test pretransfusionales se denomina investigación de anticuerpos irregulares, y cuando se esgrime como parte del protocolo de isoinmunización materno fetal se designa Test de Coombs Indirecto.

Exposición de análisis

1. Identificar la tarjeta Diamed Liss/Coombs con el nombre y apellidos del receptor y rotular cuatro pocillos en cada tarjeta con los números 1, 2 y 3.
2. Ampliar a cada pocillo 25 μ L del suero problema.
3. Situar 50 μ l de la dilución de hematíes comerciales Id Diacell I, II y III en los pocillos rotulados de la tarjeta.
4. Incubar durante 10 minutos a 37°C la tarjeta en la incubadora Diamed.
5. Centrifugar la tarjeta en la centrífuga Diamed.

Proceder a la lectura.

Capítulo 11°. La titulación de anticuerpos. Método en tarjeta.

Estudio de análisis

El título de un anticuerpo, es la dilución máxima en la que su presencia puede ser demostrada por aglutinación, y es una forma grosera de valorar la "cantidad" del anticuerpo.

Exposición de análisis

1. Rotular los tubos con la dilución del suero (1, 2, 4, 8, 16, 32, 64) y añadir 0,1 ml de Id solución 2 a todos los tubos excepto al primero.
2. Ampliar un volumen igual de suero a los dos primeros tubos.
3. Mezclar con una pipeta limpia varias veces el contenido del segundo tubo y transferir 0,1 ml al siguiente tubo. Repetir el procedimiento con todas las diluciones, utilizando una punta de pipeta nueva con cada tubo. El volumen del último tubo se guarda en un tubo limpio por si se requiriesen nuevas diluciones.
4. Rotular una tarjeta LISS/Coombs con el número de identificación del paciente y en cada pocillo con las diluciones de los tubos empezando por el segundo tubo (2, 4, 8, 16, 32, 64).
5. Dispensar en cada pocillo 50 μ L de hematíes en suspensión al 0.8% (los hematíes deben tener el antígeno frente al que se dirige el anticuerpo a titular y ser compatibles ABO con el suero problema).
6. Ampliar a cada pocillo 25 μ L de la dilución correspondiente.
7. Incubar durante 10 minutos la tarjeta en la incubadora Diamed.
8. Centrifugar la tarjeta en la centrífuga Diamed.

Proceder a la lectura.

Capítulo 12º. Las pruebas cruzadas

Estudio de análisis

Control final de la compatibilidad ABO entre el donante y el receptor. Demuestra la ausencia de anticuerpos irregulares que pudiera tener el receptor frente a los hematíes del donante.

Exposición de análisis

1. Identificar las tarjetas (Diamed LISS/Coombs y Diamed CINA) con el nombre y apellidos del receptor y rotular cada pocillo con el número de la unidad a cruzar.
2. Preparar una dilución con 50 μ l de la unidad de concentrado de hematíes y 0.5 ml de Id-

Diluent 2, en un tubo rotulado con el nº de la unidad de concentrado de hematíes.

3. Situar 50 µl de la dilución de hematíes en los pocillos de la tarjeta Diamed LISS/Coombs y en la tarjeta Diamed CINA.
4. Situar 25 µl de suero del receptor en cada pocillo de las dos tarjetas.
5. Incubar durante 15 minutos, la tarjeta Diamed LISS/Coombs, en la incubadora Diamed. Dejar ese mismo tiempo la tarjeta Diamed CINA a temperatura ambiente.
6. Centrifugar la tarjeta en la centrífuga Diamed.
7. Proceder a la lectura.

Capítulo 13º. Técnica del Coombs Directo

Estudio de analisis

Esta técnica detecta si los hematíes están recubiertos de anticuerpos o complemento.

Exposición de análisis

1. Identificar una tarjeta Diamed LISS/Coombs con el nombre y apellidos del paciente y/o el número de identificación de la muestra.
2. Preparar una dilución con 50 µl de sangre total en 0.5 ml de Id-Diluent 2, en un tubo debidamente identificado.
3. Situar 10 µl de la dilución de hematíes en uno de los pocillos de la tarjeta.
4. Centrifugar en la centrífuga Diamed.
5. Proceder a la lectura.

Disquisición del estudio analítico

- Si el botón de hematíes queda en la parte superior del pocillo indica aglutinación y la lectura es positiva.
- Si el botón de hematíes baja la lectura es negativa.

Capítulo 14°. La técnica del coombs directo monoespecífico

Estudio de análisis

Esta técnica identifica la clase de inmunoglobulina o fracción del complemento causantes de la positividad de un test de Coombs.

Exposición de análisis

1. Identificar una tarjeta DC Screening I con el nombre y apellidos del paciente y/o el número de identificación de la muestra.
2. Preparar una dilución con 30 µl de hematíes de la muestra en 1000 µl de Id Solución 2, en un tubo debidamente identificado.
3. Situar 25 µl de la dilución de hematíes en cada uno de los pocillos de la tarjeta.
4. Centrifugar 8 minutos en la centrífuga Diamed.
5. Proceder a la lectura.

Disquisición del estudio analítico

- Si el botón de hematíes queda en la parte superior del pocillo indica aglutinación y la lectura es positiva.
- Si el botón de hematíes baja la lectura es negativa.

Capítulo 15°. Interpretación de la aglutinación.

Estudio de análisis

Valorar las reacciones de aglutinación de forma estándar.

Exposición de análisis

Anota- ción	Grado de aglutinación	Descripción de la aglutinación
10	++++	Botón sólido de eritrocitos, ningún eritrocito libre; fondo claro.
10	+++	Varios aglutinados grandes; fondo claro.
8	++	Muchos aglutinados de regular tamaño; fondo claro.
5	+	Aglutinados pequeños; fondo turbio.
2	+/-	Aglutinados muy pequeños; fondo turbio.
0	-	No aglutinación ni hemólisis todos los eritrocitos libres.
PH		Hemólisis parcial.
H		Hemólisis completa; no quedan hematíes.

Siempre debe buscarse la presencia de hemólisis, su presencia indicará un resultado positivo.

Capítulo 16°. La determinación del fenotipo del grupo Lewis

Estudio de análisis

Establecer el fenotipo del grupo Lewis, en este caso para los antígenos Lea y Leb

Exposición de análisis

1. Rotular 3 pocillos de una tarjeta Diamed CINA correctamente identificada por cada antígeno a identificar como P, C+ y C- y ampliar por orden; 50 μ L de hematíes del paciente diluido al 0.8% en el primer pocillo, 50 μ L de hematíes comprobados positivos para el antígeno en el segundo pocillo y 50 μ L de hematíes comprobados negativos para el antígeno en el tercer pocillo.
2. Ampliar a cada pocillo 25 μ L del antisuero correspondiente al antígeno a identificar.
3. Incubar la tarjeta durante 10 minutos a 22°C.
4. Centrifugar la tarjeta en la centrífuga Diamed.
5. Proceder a la lectura.

Disquisición del estudio analítico

- Si el botón de hematíes queda en la parte superior del pocillo indica aglutinación y la lectura es positiva.
- Si el botón de hematíes baja la lectura es negativa.

Una positividad en el control negativo o negatividad en el control positivo invalida la prueba.

Capítulo 17°. La determinación del grupo MN

Estudio de análisis

Establecer el fenotipo del sistema MN, en este caso para los antígenos M y N.

Exposición de análisis

1. Rotular 3 pocillos de una tarjeta Diamed CINA correctamente identificada por cada antígeno a identificar como P, C+ y C- y ampliar por orden; 50 μ L de hematíes del paciente diluido al 0.8% en el primer pocillo, 50 μ L de hematíes comprobados positivos para el antígeno en el segundo pocillo y 50 μ L de hematíes comprobados negativos para el antígeno en el tercer pocillo.
2. Ampliar a cada pocillo 25 μ L del antisuero correspondiente al antígeno a identificar.
3. Incubar la tarjeta durante 10 minutos a 22°C.

4. Centrifugar la tarjeta en la centrífuga Diamed.
5. Proceder a la lectura.

Disquisición del estudio analítico

- Si el botón de hematíes queda en la parte superior del pocillo indica aglutinación y la lectura es positiva.
- Si el botón de hematíes baja la lectura es negativa.

Una positividad en el control negativo o negatividad en el control positivo invalida la prueba.

Capítulo 18°. La determinación del grupo P

Estudio de análisis

Establecer el fenotipo del sistema P, en este caso para el antígeno P₁.

Exposición de análisis

1. Rotular 3 pocillos de una tarjeta Diamed CINA correctamente identificada por cada antígeno a identificar como P, C+ y C- y ampliar por orden; 50 µL de hematíes del paciente diluido al 0.8% en el primer pocillo, 50 µL de hematíes comprobados positivos para el antígeno en el segundo pocillo y 50 µL de hematíes comprobados negativos para el antígeno en el tercer pocillo.
2. Ampliar a cada pocillo 25 µL del antisuero correspondiente al antígeno a identificar.
3. Incubar la tarjeta durante 10 minutos a 22°C.
4. Centrifugar la tarjeta en la centrífuga Diamed.
5. Proceder a la lectura.

Disquisición del estudio analítico

- Si el botón de hematíes queda en la parte superior del pocillo indica aglutinación y la lectura

es positiva.

- Si el botón de hematíes baja la lectura es negativa.

Una positividad en el control negativo o negatividad en el control positivo invalida la prueba.

Capítulo 19°. La determinación de los grupos acreditados Ss, Kk, KpaKpb, FyaFyb, JkaJkb, LuaLub

Estudio de análisis

Establecer el fenotipo de los hematíes para los sistemas de grupo aludidos.

Exposición de análisis

1. Rotular 3 pocillos de una tarjeta Diamed LISS/ Coombs correctamente identificada por cada antígeno a identificar como P, C+ y C- y ampliar por orden; 50 µL de hematíes del paciente diluido al 0.8% en el primer pocillo, 50 µL de hematíes comprobados positivos para el antígeno en el segundo pocillo y 50 µL de hematíes comprobados negativos para el antígeno en el tercer pocillo.
2. Ampliar a cada pocillo 25 µL del antisuero correspondiente al antígeno a identificar.
3. Incubar la tarjeta durante 10 minutos a 37°C en la incubadora Diamed.
4. Centrifugar la tarjeta en la centrífuga Diamed.
5. Proceder a la lectura.

Disquisición del estudio analítico

- Si el botón de hematíes queda en la parte superior del pocillo indica aglutinación y la lectura es positiva.
- Si el botón de hematíes baja la lectura es negativa.

Una positividad en el control negativo o negatividad en el control positivo invalida la prueba.

Capítulo 20°. La elución mediante "R-E-S"

Estudio de análisis

Con la elución pretendemos separar los anticuerpos unidos a los hematíes para poder estudiar dichos anticuerpos.

Exposición de análisis

1. Solución de Lavado. Se prepara suficiente solución para lavar cuatro veces los hematíes. Es una dilución 1/10 con disolvente y agua destilada (ej. 2ml de disolvente y 18ml de H₂O destilada).
2. Lavar 1 ml (20 gotas) de hematíes concentrados 1 vez con salino, y 4 veces con solución de lavado.
3. Retirar el máximo de sobrenadante del último lavado y utilizarlo como control (en un tubo etiquetado).
4. Colocar 1 ml de células lavadas en un tubo y ampliar 1 ml de SOLUCION I (20 gotas y 20 gotas).
5. Mezclar suavemente por inversión 4-5 veces.
6. Centrifugar inmediatamente en 3400 durante 1 minuto.
7. Transferir el sobrenadante (ELUIDO) a un tubo limpio y etiquetado.
8. Ampliar 20 gotas de SOLUCION II (Azul), mezclar bien. Si el color es aún amarillo, ampliar gota a gota hasta que alcance un color azul pálido.
9. Centrifugar nuevamente para eliminar cualquier precipitado y transferir a un tubo limpio.

Investigar la presencia de anticuerpos en el eluido, utilizar el sobrenadante del último lavado como control negativo.

Capítulo 21°. La elución con "Gamma EGA

Estudio de análisis

El procedimiento descrito es útil para eliminar los autoanticuerpos que recubren a los hematíes, para de esta forma poder fenotiparlos. Es igualmente útil para células no recubiertas con IgG, cuando el fin es destruir los antígenos del sistema Kell para ayudar en la identificación de anticuerpos.

Exposición de análisis

1. Lavar los hematíes tres veces con salino fisiológico, y resuspenderlos al 3-5%.
2. Ampliar 30 gotas de esta suspensión en un tubo limpio
3. Centrifugar 1 minuto a 3.400 rpm y eliminar el sobrenadante con cuidado de no tocar los hematíes.
4. En otro tubo, preparar la solución ácida de EDTA-glicina añadiendo 4 gotas de EGA solución 1 y 16 gotas de EGA solución 2.
5. Ampliar inmediatamente la solución EDTA-glicina recién preparada al paquete de hematíes lavados y mezclar suavemente.
6. Mantener a temperatura ambiente ($23\pm 3^{\circ}\text{C}$) no más de 2 minutos (con el cronómetro en mano). Si las células están fuertemente agrupadas o teñidas, debe acortarse el tiempo de incubación en períodos de 15 segundos.
7. Ampliar inmediatamente 7 gotas de solución EGA 3, mezclar bien y centrifugar 30 segundos a 3.400rpm.
8. Eliminar el sobrenadante, y resuspender las células en salino. Si en este momento del tratamiento las células no están fuertemente agrupadas o teñidas (ver paso 6), lavar las células al menos tres veces con salino.

Arrostración

Es de máxima cautela que en el tratamiento con EGA hace que las células se puedan hemolizar con facilidad. En caso que se produzca un retraso entre el lavado y el tipaje, se requerirán mas lavados

Disquisición del estudio analítico

Efectuar la prueba de antiglobulina directa (Coombs Directo) de las células tratadas. Si es negativo, se procede al tipaje de los hematíes.

Capítulo 22°. La adsorción autóloga de autoanticuerpos calientes

Estudio de análisis

Los auto-anticuerpos (Ac) calientes pueden enmascarar la presencia de alo-Ac en el suero. La adsorción del suero con hematíes autólogos puede eliminar los auto-Ac y desenmascarar los posibles alo-Ac.

Exposición de análisis

1. Preparar dos alícuotas de 1 ml de hematíes del paciente tratados según la Técnica de Elución con GammaEGA (T-22).
2. Ampliar 2 ml de suero del paciente a una de las alícuotas, mezclar e incubar a 37°C durante 30 minutos.
3. Centrifugar a 3400 rpm durante 2 minutos y transferir el suero a la segunda alícuota de hematíes. Mezclar e incubar a 37°C durante 30 minutos.
4. Centrifugar a 3400 rpm 2 minutos. Transferir el SUERO ADSORBIDO, a un tubo limpio y etiquetado.
5. Efectuar una investigación de anticuerpos irregulares, y una identificación si procede. En caso de positividad puede utilizarse este suero para la realización de pruebas cruzadas.

Observación primordial: No es propio para llevar a efecto la autoadsorción con hematíes de un

paciente recién transfundido, puesto que los hematíes transfundidos circulantes pueden adsorber los alo-Ac que se están inquiriendo.

Capítulo 23. La hemoglobinuria paroxística nocturna

Estudio de análisis

El Test de HPN (hemoglobinuria paroxística nocturna) sirve para detectar la ausencia o déficit de proteínas implicadas en la mayor sensibilidad de las células de serie roja al complemento en estos pacientes. Valora el DAF (factor acelerador del decaimiento CD55) y el MIRL (inhibidor de membrana de la lisis reactiva).

Exposición de análisis

1. Recoger un tubo de sangre citratada (protrombina) del enfermo. En este caso también sirve tubo con EDTA, heparina o CPD-A. Es importante que sea sangre fresca recién extraída.
2. Preparar una solución 0,8 % con diluyente 2 de DiaMed (10 mcl de sangre y 1 ml de diluyente) para usar inmediatamente.
3. Ampliar 50 mcl de suspensión de hematíes a los pocillos DAF, MIRL y ctl de la tarjeta DiaMed.
4. Ampliar 50 mcl de cada solución (MIEL, DAF y ctl) al pocillo correspondiente
5. Repetir la operación con sangre de un paciente sin HPN, que servirá como control negativo en la misma tarjeta.
6. Incubar 15 minutos a 37° C.
7. Centrifugar en la centrífuga Dia Med (ID centrífuga 24 S) durante 10 minutos.

Leer los resultados

Capítulo 24°. Las autoaglutininas frías de títulos elevados

Estudio de análisis

Precisar a que concentración se detentan anticuerpos fríos. Los autoanticuerpos fríos, si están presentes a títulos elevados tienen significación clínica y pueden causar hemólisis manifiesta, síntomas sistémicos e indicar una neoplasia subyacente.

Exposición de análisis

1. Obtener suero (mantenido a 37°C desde el momento de la extracción) separado a 37°C de una muestra de sangre que se deja coagular a 37°C o plasma, separado de una muestra anticoagulada después de inversiones periódicas a 37°C durante 15 minutos.
2. Preparar una suspensión al 1% en salino de eritrocitos de los siguientes fenotipos:
 - OI (pueden prepararse a partir de un segmento tomado de una unidad de sangre extraída dentro de los 7 días precedentes o de una muestra extraída con EDTA dentro de los tres días precedentes).
 - Oi (Cordón)
 - Autólogos.
3. Diluir el suero o plasma al 1/5 en salina.
4. Preparar tres hileras de doce tubos con diluciones seriadas al doble de suero o plasma diluido al 1/5 (1/10,....1/20.480). Utilizar volúmenes de 0,5 ml cuando se hacen las diluciones.
5. Agregar a cada tubo 0,5 ml de los hematíes correspondientes.
6. Mezclar e incubar toda la noche a 4°C.
7. No centrifugar. Examinar los eritrocitos sedimentados macroscópicamente en busca de aglutinación. Anotar los resultados.

Disquisición del estudio analítico

El título es la recíproca de la dilución más alta del suero en la que se observa aglutinación. Los títulos por encima de 1/40 se consideran elevados, pero la anemia hemolítica por autoaglutininas reactivas en frío rara vez ocurre a menos que el título sea superior a 1/640.

Capítulo 25°. La especificidad de crioaglutininas

Estudio de análisis

Establecer la especificidad de las autoaglutininas que reaccionan en frío. Para ello se estudia el suero frente a eritrocitos que presenta antígenos ante los cuales reaccionan las aglutininas frías.

Exposición de análisis

1. Suero (mantenido a 37°C desde el momento de la extracción) separado a 37 °C de una muestra de sangre que se deja coagular a 37°C o plasma, separado de una muestra anticoagulada después de inversiones periódicas a 37°C durante 15 minutos.
2. Suspensión al 5% en salino de eritrocitos de los siguientes fenotipos.
 - a. Dos muestras de células OI (puede utilizarse hematíes del panel de investigación de anticuerpos).
 - b. Una muestras de hematíes del paciente
 - c. Una muestra de hematíes A o B si el paciente no es grupo 0
 - d. Una muestra OI tratada con enzimas (bromelina)
 - e. Una muestra de hematíes Oi (cordón umbilical)
3. Preparar cinco hileras de doce tubos con diluciones seriadas al doble de suero o plasma (1/2,....1/4096)
4. Mezclar tres gotas de cada dilución con una gota de hematíes al 5% de cada muestra de eritrocitos.
5. Incubar a temperatura ambiente durante 15 minutos. Centrifugar (1000 x g 30 segundos)y examinar (golpear suavemente) macroscópicamente en busca de aglutinación. Anotar los resultados.
6. Colocar los tubos a 4°C e incubar a esta temperatura durante 1 hora. Centrifugar y examinar macroscópicamente en busca de aglutinación. Anotar los resultados.

Disquisición del estudio analítico

Síntesis

Eritrocitos	Anti-I	Anti-i	Anti-H	Anti-IH	Anti-Pr
OI	NR/↓	↑	≡	↓	≡
Oi	NR/↓	↑	<	↓	≡
AI	≡	≡	↓	↓	≡
OI enzimas	↑	↑	↑	↑	NR/↓
Autólogo	≡	≡	↓	↓	≡

Algunos autoanticuerpos fríos pueden no mostrar especificidad aparente a temperatura de 4°C, en estas circunstancias las pruebas pueden ser incubadas a 30-37°C. La reactividad diferencial puede hacerse más aparente si se prolonga el tiempo de incubación y la aglutinación se evalúa después de la sedimentación sin centrifugación.

Capítulo 26°. La técnica de Donath-Landsteiner

Estudio de análisis

Esta técnica se emplea para detectar la hemolisina bifásica responsable de la anemia hemolítica autoinmune paroxística fría.

Exposición de análisis

1. Obtener suero separado de una muestra de sangre recogida y mantenida a 37 °C y suero fresco (como fuente de complemento).
2. Preparar eritrocitos del grupo O lavados y resuspendidos al 50%.
3. Rotular tres filas de tubos como sigue:
? A₁ A₂ A₃
? B₁ B₂ B₃
? C₁ C₂ C₃
4. A los tubos 1-2 de cada fila ampliar 10 volúmenes de suero del paciente.
5. A los tubos 2-3 de cada fila ampliar 10 volúmenes de suero fresco.
6. A todos los tubos ampliar un volumen de la

Inscríbete ahora en nuestros cursos gratis

Pasos para aumentar la efectividad de sus acciones comerciales
Aprenda a Invertir y Administrar su Dinero
Cómo tener su propio boletín electrónico
Operaciones de Comercio Exterior
Imagen personal para mujeres profesionales
Satisfacción del cliente
Ventas exitosas
Planificación de la carrera profesional
Manual de Organización y Regulaciones Internas
Contabilidad Intermedia
Prevención de Demandas Laborales
Prevención del Acoso Sexual en el Trabajo

suspensión de eritrocitos. Mezclar.

7. Colocar los tres tubos de la hilera A en hielo fundido durante 30 minutos y luego pasarlos a 37 °C durante 1 hora.
8. Colocar los tres tubos de la hilera B en hielo fundido durante 90 minutos.
9. Centrifugar todos los tubos e investigar hemólisis en el líquido sobrenadante.

Disquisición del estudio analítico

La prueba se considera positiva cuando el suero del paciente, con complemento o sin él, produce hemólisis en los tubos que se han colocado primero en hielo y luego a 37 °C (tubos A₁ A₂) y no hay hemólisis en los mantenidos a 37 °C o en hielo. Los tubos A₃ B₃ C₃ sirven como control del complemento y deben ser negativos.