

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure of a man in a red and white robe, possibly a saint or scholar, holding a book. Above him is a golden crown with a cross. To the left is a golden castle, and to the right is a golden lion rampant. Below the central figure is a landscape with green hills and a white path. A figure in a blue and yellow outfit is riding a white horse along the path. The entire scene is set against a light blue background. The seal is surrounded by a grey border containing the Latin text "ACADEMIA COACTEMALENSIS INTER CETERAS OBIS CONSPICUA CAROLINA" in a serif font.

**COMPROBACIÓN DE LA CALIDAD DE LOS ANTISUEROS USADOS PARA LA
TIPIFICACION SANGUINEA, EN LOS BANCOS DE SANGRE DEL ÁREA
METROPOLITANA DE GUATEMALA.**

Jorge Mario Hernández de León

Maestría en Bancos de Sangre y Medicina Transfusional

Guatemala, enero de 2019

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



**COMPROBACIÓN DE LA CALIDAD DE LOS ANTISUEROS USADOS PARA LA
TIPIFICACION SANGUINEA, EN LOS BANCOS DE SANGRE DEL ÁREA
METROPOLITANA DE GUATEMALA.**

**Trabajo de tesis presentado por
Jorge Mario Hernández de León**

Para optar al grado de Maestro en Artes
Maestría en Bancos de Sangre y Medicina Transfusional

Guatemala, enero de 2019

JUNTA DIRECTIVA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda	DECANO
MA. Elsa Julieta Salazar de Ariza	SECRETARIA
MSc. Miriam Carolina Guzmán Quilo	VOCAL I
Dr. Juan Francisco Pérez Sabino	VOCAL II
Lic. Carlos Manuel Maldonado Aguilera	VOCAL III
Br. Byron Enrique Pérez Díaz	VOCAL IV
Br. Pamela Carolina Ortega Jiménez	VOCAL V

CONSEJO ACADÉMICO

ESCUELA DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

Rubén Dariel Velásquez Miranda, Ph.D

María Ernestina Ardón Quezada, MSc.

Jorge Mario Gómez Castillo, MA.

Clara Aurora García González, MA.

Silvia María Morales Cabrera, MSc.

RESUMEN

El control de calidad de los antisueros y su monitoreo son de vital importancia para la realización e interpretación de las pruebas de hemoclasificación, las cuales son la base fundamental para el inicio de las terapias transfusionales. Desde su implementación, han sido vitales en la determinación y clasificación de los grupos sanguíneos y antígenos de importancia en la medicina transfusional.

Con esta investigación se evidencia la calidad de los Antisueros que se trabajan en la actualidad en los Bancos de Sangre y en algunos Laboratorios Clínicos del área Metropolitana de Guatemala; siendo los parámetros evaluados: la Avidéz (tubo y lámina), Potencia o Afinidad, Especificidad y Título. Se comprobó, que en general. los antisueros: A, B, AB cumplen con la Avidéz en lámina, Especificidad y Potencia, mientras que el Rh los reactivos 2 y 3 tienen una Potencia de 3+ lo cual puede causar algunos inconvenientes. Mientras que el parámetro del Título, fue el que más variantes se notan, observándose que los reactivos Anti A: 1, 3, 4, 5, 6, 7 cumplen con las especificaciones de la Comunidad Europea (CE), pero los reactivos 4 y 7 cumplen con las dos especificaciones, tanto de la CE como de la AABB, sin importar el tiempo de centrifugación; no así los reactivos 5 y 6, los cuales requieren de mas tiempo (30 seg. y 60 seg.) para cumplir con la AABB.

En el reactivo Anti B: los reactivos 1, 4, 6 y 7, cumplen con las especificaciones de CE y AABB, sin importar el tiempo de centrifugación.

El reactivo 3 necesita de más tiempo de centrifugación para cumplir con la Norma Europea. Los reactivos 4 y 7 presentan un título mayor de 1:512 sin importar el tiempo de centrifugación, mientras que el reactivo 5 se obtuvo un título de 1:512 a los 30 segundos y 1 minuto.

El reactivo Anti AB: los únicos antisueros analizados cumplen con las especificaciones internacionales y necesitan un tiempo de 30 minutos para cumplir con la Norma Americana.

Y el reactivo de Rh: se evidencia que los reactivos 2, 4, y 7 cumplen con las especificaciones internacionales con un título de 1:64, los reactivos 4,7 son los reactivos

con el mayor título obtenido de 1:256, y el reactivo 4 es el único que presenta la mejor Potencia durante su reacción en los distintos títulos. Los reactivos 3 y 6 no cumplen con el título mínimo, ya que se obtuvo un título de 1:32.

Con la información recabada se pudo observar que, todos los reactivos cumplen con la Avidéz, Especificidad y Potencia, no así el reactivo 2 el cual presento baja Potencia (3+). El título juega un papel importante para la selección del reactivo a utilizarse, ya que, en los recién nacidos, los títulos de antígenos son bajos y puede dar resultados no reales por la calidad del Antisuero o Hemoclasificador

ÍNDICE

I. INTRODUCCION	1
II. ANTECEDENTES	3
A. Generalidades	3
B. Mecanismos para eliminar errores	4
C. Calidad de los reactivos	5
D. Calidad de las técnicas	6
E. Normas Generales para Recepción de Reactivos	7
F. Avidez, Potenciación, Especificidad y Título	8
III. JUSTIFICACION	10
IV. OBJETIVOS	11
VI. MATERIALES Y METODOS	12
VII. RESULTADOS	22
VIII. DISCUSION	31
IX. CONCLUSIONES	33
X. RECOMENDACIONES	34
XI. REFERENCIAS	35
XII. ANEXOS	38

I. INTRODUCCIÓN

El concepto universal de la calidad y el estudio de sus procesos se ha extendido fuera de la industria de la manufactura a las Ciencias de la Salud. El servicio y la satisfacción del cliente se han convertido en una de las metas más importantes para los hospitales, laboratorios clínicos y bancos de sangre, quienes a su vez tratan de implementar un sistema de calidad que se adapte a las necesidades operativas y financieras. Es así que se pueden definir como el sistema de calidad, como el conjunto de políticas, recursos y documentos conducentes a asegurar la calidad, no sólo del producto sino de la organización como un todo. Un documento es un testimonio importante por el que se prueba, establece o hace constar algo; dentro de éstos se tiene a los procedimientos y documentos que, entre otros, describen la secuencia necesaria de pasos para asegurar la correcta ejecución de las actividades de tipo administrativo o técnico.

El control de calidad de los antisueros y su monitoreo son de vital importancia para la realización e interpretación de las pruebas de hemoclasificación, las cuales son base fundamental para el inicio de las terapias transfusionales. Desde su implementación, han sido vitales en la determinación y clasificación de los grupos sanguíneos y demás antígenos de importancia en la medicina transfusional. Así, errores en el reactivo podrían causar graves secuelas en los pacientes y problemas a la entidad que los maneje.

Los antisueros son los elementos más importantes para llevar a cabo las pruebas que se realizan en inmunohematología. La implementación de la gestión de riesgo, que es la combinación entre la probabilidad de que se produzca un evento y sus consecuencias negativas, es de suma importancia ya que ayuda a conocer los riesgos posibles con el fin de mitigarlos antes que se transformen en errores.

El análisis de los reactivos inmunohematológicos se orienta en garantizar la calidad y la reproducibilidad de las pruebas inmunohematológicas realizadas y, como consecuencia, efectuar una transfusión segura a los pacientes.

El grupo sanguíneo es la primera prueba que se realiza al solicitar una transfusión de cualquier componente sanguíneo, sin importar si es paciente adulto o pediátrico. En niños, este error se ve incrementado por los títulos bajos de antígenos que tiene un recién nacido y, si se utiliza un antisuero cuyo título es menor al del paciente, la tipificación sanguínea no sería la correcta (A_1 , B, A_1B).

En Guatemala, no se realiza un control de calidad de los antisueros al ingresar al país; sin embargo, en algunos Bancos de Sangre lo realizan como parte de la garantía de la calidad.

En Guatemala, ingresan y se distribuyen más de 7 marcas de antisueros, de los cuales se desconoce si cumplen con los estándares internacionales. Sin embargo, no existen normas que garanticen la calidad de los mismos y que regulen su uso.

Este trabajo verificó la calidad de los distintos antisueros usados en los Bancos de Sangre de Guatemala, con el fin de asegurar que cumplan con las normativas vigentes de la Autoridad Sanitaria Competente y se estableció cual fue el mejor procedimiento para realizar dicho control, con el propósito de estandarizar las pruebas inmunohematológicas, en cada proceso y la verificación del cumplimiento de las especificaciones de la Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB) y/o Comunidad Europea (CE).

Este estudio fue descriptivo-analítico y no hubo necesidad de utilizar un diseño estadístico inferencial, debido a que se centró en la evaluación del cumplimiento de los estándares internacionales.

II. ANTECEDENTES

A. Generalidades

Si bien conseguir la excelencia es meta de todas las especialidades del campo de la Salud, la medicina transfusional ha sido una de las que más medidas ha adoptado en los últimos años para lograrla. Ello se debe a que ésta especialidad se sitúa en el punto de mira de la sociedad en general y las transfusiones sanguíneas siguen presentando riesgos, aunque sean mínimos, para la salud de las y los receptores (Franco, 2003).

La creciente demanda de calidad y seguridad, en relación con el tratamiento transfusional por parte de pacientes y sociedad en general, ha impulsado esfuerzos continuos para mejorar las prácticas y garantizar que la transfusión cumpla con determinados objetivos. Tales esfuerzos han conducido a notables logros, ya que se han introducido medidas de seguridad más rigurosas en cada paso intermedio, desde la selección del donante hasta el seguimiento postransfusional del paciente. La mayoría de los países han adoptado leyes aplicables a la terapia transfusional, tanto en sus aspectos organizativos como en los eminentemente técnicos, para garantizar la seguridad de la transfusión sanguínea. Por esta razón, se ha superado progresivamente el concepto de control de calidad y actualmente se habla de la “Garantía de la Calidad”, asociada a la necesidad de ejercer un estricto control sobre todo el sistema, al establecer y observar protocolos para todos los pasos, desde la obtención de la sangre del donante hasta su administración al receptor.

La correcta tipificación de las muestras sanguíneas y la detección de anticuerpos irregulares en todas las donaciones de sangre constituyen una parte crucial del proceso para garantizar que la transfusión cumpla con sus objetivos terapéuticos sin provocar efectos indeseados, algunos de los cuales podrían poner en riesgo la vida del paciente.

Por lo tanto, la obtención de resultados correctos en las técnicas inmunohematológicas aplicadas de forma generalizada para constatar la perfecta caracterización de las unidades de sangre o de sus componentes es fundamental para garantizar una buena asistencia transfusional (Franco, 2003)(Radillo G, 1999).

La Organización Panamericana de la Salud (OPS), consiente de esa necesidad, apoya desde 1996 el Programa de Control de Calidad Externo, en Inmunoematología para la Región de las Américas, que ha proporcionado buenos resultados.

Son varios los aspectos que deben controlarse para conseguir resultados correctos. En la búsqueda de la calidad desempeñan un determinante papel los factores como: los reactivos utilizados, la precisión de los instrumentos y equipos, las técnicas utilizadas y, desde luego, la formación y destreza del personal que ejecuta las acciones (Franco, 2003).

B. Mecanismos para eliminar errores

Cometer errores es parte consustancial de la condición humana, pero a su vez es algo que en la práctica médica no se puede permitir. Por esta razón, la organización y los métodos de trabajo de cualquier centro deben tener como objetivo establecer barreras contra posibles fuentes de error. Toda organización debe recoger y analizar los errores observados, así como los que estuvieron a punto de cometerse, porque de su estudio deben nacer las medidas encaminadas a evitar que se repitan. Las causas de error más frecuentes en un laboratorio de inmunoematología suelen ser de origen organizativo o técnico (Franco, 2003):

B.1 Errores de origen organizativo

B.1.1 Identificación incorrecta de las muestras

Puede no estar indicado: el origen de la muestra de sangre del paciente o el segmento de la unidad de sangre correspondiente y la identidad del paciente al que se le debe transfundir la sangre. Para evitar errores de identificación, se utiliza de modo rutinario, un sistema numérico, bien conocido por todos los miembros de la organización encargados de ejecutar tareas transfusionales. En el caso de las unidades de sangre, siempre deberá proceder a analizar los grupos ABO y Rh por duplicado, una vez con la sangre del tubo que acompaña a la bolsa de sangre y otra con el tubo piloto, y anotar cuidadosamente la identidad de ambos (Franco, 2003).

B.1.2 Errores en la transcripción de los resultados a los registros, sean estos informáticos o manuales alineado a errores.

En el caso de registros informáticos se evitan los errores en los procesos que se realizan automáticamente, mediante conexiones en línea. Cuando la transcripción es manual, el técnico que hace el análisis y transcribe los resultados está obligado a firmar y su firma sirve como comprobante. Aunque la existencia de protocolos obliga a todos los técnicos a realizar las pruebas de una misma manera, no se recomienda que una persona inicie una técnica; que otra la termine y registre el resultado (Franco, 2003).

B.2 Errores de origen técnico

B.2.1 Los reactivos. Los problemas pueden radicar, en a la caducidad de los reactivos o su alteración por almacenamiento en condiciones poco idóneas así como: el origen de la matriz(Leyva, Gallardo, Luberta, & Reyes, 2000)(Kajji, Usuda, & Ikemoto, 1990). Es necesario realizar un control de la reactividad de los mismos, con una o más muestras conocidas.

B.2.2 Las muestras. La calidad de las muestras puede verse afectada por las técnicas de extracción y conservación.

B.2.3 El equipo. Los instrumentos empleados pueden ser defectuosos.

B.2.4 Los métodos. Pueden surgir errores debido, entre otras cosas, a prácticas inadecuadas o a no seguir las instrucciones del fabricante de los reactivos usados (Franco, 2003)(Aburto, 2013)(Garibay, 2006).

C. Calidad de los reactivos

Todos los centros adquieren los reactivos que van a utilizar después de comprobar que cumplen sus expectativas técnicas. Ello no significa que no deban someterse a controles sistemáticos, que deben abarcar (Ministerio de salud, 2015)(Novaretti et al., 2009)(Thorpe, Fox, Sharp, White, & Milkins, 2016)(Republica Doninicana, 2004)(Rivero et al., 2004):

1. El registro, en el momento de la recepción de los reactivos, y las condiciones de embalaje, temperatura y caducidad son adecuadas (Ministerio de salud, 1999).
2. La evaluación de cada lote en el laboratorio antes de usarlo (anexo 1).

3. El control de las condiciones de almacenamiento.
4. El cumplimiento de las instrucciones del fabricante para garantizar resultados correctos.
5. El análisis diario de controles internos apropiados para garantizar la corrección y repetitividad de los resultados (Novaretti et al., 2009)(Batista et al., 1999).

En nuestro país solamente ingresa un antisuero por medio de un registro sanitario, el cual sirve para su distribución y uso en los distintos Bancos de Sangre (anexo 2).

D. Calidad de las técnicas

Todos los procedimientos de trabajo deben estar escritos con claridad y concisión y, una vez aprobados, deberán colocarse en un lugar de fácil acceso para que el personal pueda consultarlos. Nadie puede practicar las técnicas de forma distinta a la aprobada; se debe considerar que la mayoría de los errores que se cometen se pueden evitar si se siguen las normas.

Es preciso:

1. Identificar y ordenar las muestras correctamente.
2. Controlar los reactivos.
3. Estudiar controles positivos y negativos junto con las muestras problemáticas y constatar que se obtienen en los resultados esperados.
4. Establecer un sistema a prueba de errores para el registro de los resultados.

A nivel internacional existen otras regulaciones y normas que son utilizadas en los bancos de sangre para elevar la calidad de sus actividades. Dentro de estas se pueden citar: (Norma Mexicana, 1993)

1. La familia de las normas ISO-9000. Se trata de un conjunto de estándares de calidad aplicables a cualquier producto o servicio, que define 20 elementos del sistema de calidad, los cuales aseguran que una organización cuenta con un sistema de calidad, documentado y efectivo. Este proceso comienza con una certificación y auditorías periódicas que confirman dicha certificación (Hernández, 2009).

2. AABB Standard for Blood Banks and Transfusion Services. Es una norma de la Asociación Americana de Bancos de Sangre que tiene carácter regulatorio en EE. UU. y ha sido adoptada por algunos países como guía o norma (AABB, 2015).

3. La Tercera es la Normativa del FDA (Food and Drug Administration), que cuenta con el Mandate for Blood Banks, más enfocado a las buenas prácticas de manufactura.

4. La cuarta fuente es la OPS (Organización Panamericana de la Salud), con los Estándares de Trabajo para Bancos de Sangre, segunda edición, publicación número 7 de la serie “Medicamentos Esenciales y Tecnología”; fueron preparados sobre la base del sistema ISO-9000 con la colaboración de la AABB, validados por el Comité Consultivo Ad-Hoc de Bancos de Sangre de la OPS y revisados por un grupo mixto de trabajo, con representación de los programas nacionales de sangre de Latino América.

5. Por último, el modelo más popular es el NCCLS-GP-26-A, el cual es un modelo de calidad para el sector de la salud (Franco, 2003).

Los reactivos son los elementos más importantes para llevar a cabo las pruebas que se realizan en inmunohematología; éstas, serán tan exactas como lo sean los reactivos. El control de calidad para los sistemas ABO, Rho deben realizarse todos los días en cada jornada. Para estudios que no se realicen diariamente, se deben realizar los controles cada vez que esa prueba se lleve a cabo. Los medios de reacción en donde se empleen estos materiales deben ser vigilados continuamente para asegurar la consistencia, sensibilidad y exactitud, lo que se logra con una vigilancia en el control de calidad de los reactivos (Radillo G, 1999) (Escalante, 2010).

E. Normas generales para la recepción de los reactivos

- Verificar la apariencia física del empaque, en el sello de garantía y la caducidad:
(anexo 1) ¿Presenta alteraciones durante el traslado y/o almacenamiento?

- Verificar características físicas del reactivo: color, transparencia, presencia de hemólisis y volumen.
- Contar con el número de Inscripción sanitaria.
- Almacenamiento: acorde con las indicaciones del productor.
- Leer y almacenar los instructivos hasta terminar el lote.
- Aplicar el control de calidad de los diferentes sueros y células reactivos.

F. Control de calidad Interno de los Antisueros

Dentro de los parámetros que incluyen (AABB, 2015) (Norma Mexicana, 1993) (Bordani, 1994) (Salud Pública, 2016) (Hernández, 2009) (Vives, 1997):

F.1 Avidéz

Es una medida de la capacidad de unión y la velocidad con las cuales el anticuerpo se combina con su correspondiente antígeno (mide el tiempo máximo de reacción del reactivo a probar con sus correspondientes células) (anexo 2-3, 7) (Castillo & Lara, 2013) (Benalcázar, 2014). Las pruebas de Avidéz se realizarán de rutina a los antisueros en uso, diariamente, antes de trabajar y a una muestra de antisuero de cada nuevo lote (Norma Mexicana, 1993) (AABB, 2015).

F.2 Potencia o Afinidad

Esta prueba mide la fuerza del antisuero con la que es capaz de reaccionar con los antígenos respectivos (anexo 2,4) (AABB, 2015) (Norma Mexicana, 1993) (Thorpe et al., 2006).

F.3 Especificidad

Es la reactividad selectiva de un anticuerpo con su correspondiente antígeno, evita que llegue a reaccionar con otras, por lo que cada antisuero se hace reaccionar con las diferentes células y se observa si hubo aglutinación específica (anexo 2,5) (Norma Mexicana, 1993) (AABB, 2015).

F.4 Titulación

Esta prueba mide la máxima dilución del antisuero, a la cual es capaz de reaccionar con sus respectivas células (anexo 6-8) (AABB, 2015)(Norma Mexicana, 1993).

III. JUSTIFICACION

En la actualidad, no se realizan controles a los antisueros que ingresan a Guatemala, sin embargo, algunos Bancos de Sangre realizan control de los antisueros con el fin de validar sus procedimientos y justificar sus costos.

Debido a lo anterior, con este trabajo se pretende conocer si los antisueros que se utilizan en Banco de Sangre de Guatemala cumplen con requisitos de calidad, ya que son de vital importancia para la realización e interpretación de las pruebas de hemoclasificación las cuales, a su vez, son la base fundamental para el inicio de las terapias transfusionales.

Se analizarán 7 antisueros de distintas marcas, usados en nuestro país, en los que se examinará aspectos: Físicos, Avidez, Potenciación, Título y Especificidad, como parte de la verificación de la calidad de dichos reactivos; con lo que se pretende disminuir el “riesgo”, el cual es definido como la combinación entre la probabilidad de que se produzca un evento y sus consecuencias negativas y ayudará a conocer los riesgos posibles, con el fin de mitigarlos antes que se transformen en errores que perjudicarán al paciente.

Entre otros beneficios al realizar el trabajo, se puede mencionar: eliminar el uso inadecuado de los recursos con una optimización de ellos, identificar y revelar deficiencias, mejorar la trazabilidad de procesos, la práctica y la seguridad transfusional del paciente.

IV. OBJETIVOS

General:

Comprobar la calidad de 7 antisueros usados en los Bancos de Sangre utilizando normas usadas frecuentemente en otros países.

Específicos:

1. Establecer el mejor procedimiento para realizar el control de calidad de los antisueros utilizados en los Bancos de Sangre de Guatemala.
2. Determinar la Avidéz, Titulación, Potencia, y Especificidad de los antisueros usados en los bancos de sangre de Guatemala.
3. Determinar cuál es la mejor metodología para la realización de la Avidéz (tubo o lámina).
4. Determinar qué tiempo es el mejor para realizar un grupo sanguíneo.
5. Identificar los antisueros que cumplen con las especificaciones mínimas de la Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB y/o Comunidad Europea (CE)).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Revisión bibliográfica

Se solicitó a la Dirección General de Regulación, Vigilancia y Control de la Salud una certificación de qué reactivos tienen registro sanitario y así se determinaron los antisueros que se analizaron. De los cuales se analizaron 6 antisueros con registro sanitario vigente de las casas comerciales que distribuyen a los Bancos de Sangre del país y un reactivo que fue donado a la Cruz Roja de Guatemala.

Los antisueros a analizar fueron: Anti A, Anti B, Anti AB y Anti D, y se evaluó: Avidéz (tubo y lámina), Potencia, Especificidad y Título.

B. Recursos

1. Materiales

- Gradillas
- Porta Objetos.
- Tubos 13 x 100
- Pipetas Pasteur con bulbo.
- Centrífuga para tubos de hemólisis.
- Sueros hemoclasificadores Anti-A, Anti B. Anti-AB, Rh.
- Solución fisiológica.
- Marcadores.
- Descartadores punzocortantes.
- Pipetas automáticas de volumen variable (10 ul, 50ul, 100ul).
- Tips Amarillos descartables.
- Suspensión de glóbulos rojos (A, B, AB y O Rh positivo y Rh negativo) al 5%.
- Suspensión de glóbulos rojos (A, B, AB y O Rh positivo y Rh negativo) al 40%.
- Albúmina Bovina al 30 o 22%

2. Económicos

La mayoría de los antisueños fueron donados por algunos bancos de sangre y otros por Casas Comerciales Distribuidoras.

Q.500.00 fueron aportados por el investigador, para completar el estudio.

3.1 LISTADO DE REACTIVOS UTILIZADOS EN EL ESTUDIO

Hemoclasificador	Lote	Fecha de Vencimiento	Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Rh.
Eryclone Monoclonal	1016161	05/2018	X		0	0
	1026161	04/2018		X		
Plasmatic	707116	06/2018	X		0	
	203205	06/2018		X		
	277026	10/2018				X
Dilab	A16441/E61031	12/2018	X			
	B9194/30031	01/2018		X	0	
	7448/E74034	03/2018				X
Diaclon	102913301	05/2019	X			
	10313410	02/2019		X	0	
	112809201	11/2019				X
Wiener	160150	02/2019	X	0		
	166860	02/2019			X	
	210660	02/2019				X
Lorney Laboratories	E60036	09/2018	X			
	E61035	09/2018		X		
	E62025	10/2018			X	
	E70437	03/2018				X
Meril Diagnostic	MI061722	05/2019	X			
	MI101736	01/2019		X	0	
	MI061733	06/2019				X

D. METODOLOGÍA

Se aplicó a cada uno de los antisueros sometidos a estudio la siguiente metodología (Delia et al., 2010) (Paredes, 2008):

b. Avidez

b.1 Técnica tubo (López, Jiménez, Cabrera, & Sánchez, 2009)

1. Se preparó una suspensión de glóbulos rojos para los grupos: A, B, AB y O (Rh positivo y negativo) al 5%, los que previamente fueron lavados en solución fisiológica.
2. Se colocaron 3 filas de 5 tubos de ensayo de 10 x 75, en una gradilla y fueron marcados con las letras A, B, AB, Rh y control para cada uno de los antisueros.
3. Cada fila sirvió para centrifugar a los 15 segundos, 30 segundos y 1 minuto respectivamente.
4. Se dispuso una gota de suspensión de glóbulos rojos grupo A, B, O al 5%.
5. Se colocó en el tubo marcado con A, una gota de suero anti A, en el tubo marcado con B, poner una gota de suero anti B, en el tubo AB una gota de suero anti AB y una gota de anti D a las células Rh positivo y al control, Rh negativo.
6. Se mezcló perfectamente el contenido de los tubos.
7. Se centrifugó a 2,500 revoluciones por minuto (r.p.m.) durante 15 segundos.
8. Se retiraron de la centrifuga los tubos cuidadosamente para evitar que se mezclen los glóbulos rojos que quedan depositados en el fondo de los tubos; para efectuar la lectura se homogenizó cuidadosamente el botón del fondo, uno por uno, en busca de aglutinación.
9. Se observó presencia o ausencia de aglutinación, se comprobó que el líquido estuviera claro; cuando los hematíes formaron pequeñas aglutinaciones, el resultado fue positivo. Los resultados fueron negativos, cuando los glóbulos rojos que se distribuyeron uniformemente por el líquido.
10. Se repitió el inciso 7, a 30 segundos.
11. Se retiraron de la centrifuga los tubos cuidadosamente para evitar que se mezclen los glóbulos rojos que quedan depositados en el fondo de los tubos y para efectuar la

lectura se homogenizo cuidadosamente el botón del fondo, uno por uno, en busca aglutinación.

12. Se observó presencia o ausencia de aglutinación, se comprobó que el líquido estuviera claro, cuando los hematíes formaron pequeñas aglutinaciones, el resultado fue positivo y los resultados fueron negativos, cuando los glóbulos rojos se distribuyen uniformemente por el líquido.
13. Se repitió el inciso 7, a 1 minuto.
14. Se retiraron de la centrifuga los tubos cuidadosamente de la centrifuga para evitar que se mezclen los glóbulos rojos que quedan depositados en el fondo de los tubos y para efectuar la lectura se homogenizó cuidadosamente el botón del fondo, uno por uno, en busca de aglutinación.
15. Se observó presencia o ausencia de aglutinación, y se comprobó que el líquido estuviera claro; cuando los hematíes formaron pequeñas aglutinaciones, el resultado fue positivo y los resultados fueron negativo cuando los glóbulos rojos se distribuyen uniformemente por el líquido.
16. Se reportó el resultado de acuerdo a la intensidad del grupo y al color del líquido sobre nadante, de una o varias cruces, hasta cuatro.
17. Se observó al microscopio, cuando existiera alguna duda en la lectura, se incubó previamente el tubo a 37° C. durante 30 minutos con 2 gotas de Albúmina (30 o 22%) para luego ser observado.
18. Se anotó la lectura por grados de aglutinación de 0 a 4+ (Anexo 3).
19. Se anotó el tiempo de Aidez de cada antisuero a los distintos tiempos analizados.

b.2 Técnica en lámina

1. Se marcó cuatro láminas de vidrio con las letras A, B, AB, Rh.
2. Se preparó una suspensión de eritrocitos con solución salina al 40% de los grupos A, B, AB y Rh (positivo y negativo).
3. Se colocó una gota de eritrocitos al 40% en solución salina isotónica del grupo A, B, AB que le corresponde y una gota de eritrocitos al 40% en albúmina bovina al 22% para Rh.

4. Se colocó una gota de anti Rh a los eritrocitos y se mezcló con un aplicador de madera y se accionó el cronómetro.
5. Se mezcló la lámina, con un movimiento rotatorio con las manos y se estuvo atento a que apareciera la aglutinación; en ese momento se detuvo el cronómetro.
6. Se anotó el tiempo de avidez de cada antisuero y se visualizaron los inicios de la aglutinación (anexo 3).
 - a. Potenciación o Afinidad

Técnica (Bustamante, 2010)

1. Se preparó una suspensión de glóbulos rojos para los grupos: A, B, AB y O (Rh positivo y negativo) al 5%, los que previamente fueron lavado en solución fisiológica.
2. Se colocaron 3 filas de 5 tubos de ensayo de 10 x 75, en una gradilla, marcados con las letras A, B, AB, Rh y control para cada uno de los antisueros.
3. Cada fila sirvió para centrifugar a los 15 segundos. 30 segundos y 1 minuto respectivamente.
4. Se dispuso una gota de suspensión de glóbulos rojos grupo A, B, AB y O al 5%.
5. Se colocó en el tubo marcado con A, una gota de suero anti A; en el tubo marcado con B, se colocó una gota de suero anti B, en el tubo AB una gota de suero anti AB y una gota de anti D a las células Rh positivo y al control Rh negativo.
6. Se mezcló perfectamente el contenido de los tubos.
7. Se centrifugó a 2,500 revoluciones por minuto (r.p.m.) durante 15 segundos.
8. Se retiraron de la centrifuga los tubos cuidadosamente para evitar que se mezclen los glóbulos rojos que quedan depositados en el fondo de los tubos; para efectuar la lectura se homogenizó cuidadosamente el botón del fondo, uno por uno, en busca de aglutinación.
9. Se observó presencia o ausencia de aglutinación, se comprobó que el líquido estuviera claro; cuando los hematíes formaron pequeñas aglutinaciones, el resultado fue positivo y los resultados fueron negativos, cuando los glóbulos rojos se distribuyen uniformemente por el líquido.

10. Se repitió el inciso 7, a 30 segundos.
11. Se retiraron de la centrifuga los tubos cuidadosamente para evitar que se mezclen los glóbulos rojos que quedan depositados en el fondo de los tubos y para efectuar la lectura se homogenizó cuidadosamente el botón del fondo, uno por uno, en busca de aglutinación.
12. Se observó presencia o ausencia de aglutinación, se comprobó que el líquido estuviera claro; cuando los hematíes formaron pequeñas aglutinaciones, el resultado fue positivo y los resultados fueron negativos, cuando los glóbulos rojos se distribuyen uniformemente por el líquido.
13. Se repitió el inciso 7, a 1 minuto.
14. Se retiraron de la centrífuga los tubos cuidadosamente, para evitar que se mezclen los glóbulos rojos que quedan depositados en el fondo de los tubos y para efectuar la lectura se homogenizó cuidadosamente el botón del fondo, uno por uno, en busca de aglutinación.
15. Se observó presencia o ausencia de aglutinación, se comprobó que el líquido estuviera claro; cuando los hematíes formaron pequeñas aglutinaciones, el resultado fue positivo y los resultados fueron negativos, cuando los glóbulos rojos se distribuyen uniformemente por el líquido.
16. Se reportó el resultado de acuerdo a la intensidad del grupo y al color del líquido sobre nadante, de una o varias cruces, hasta cuatro.
17. Se observó al microscopio, cuando existiera alguna duda en la lectura, se colocó previamente al tubo a 37° C. durante 30 minutos con 2 gotas de Albúmina (30 o 22%) para luego ser observado,
18. Se colocó una gota en un portaobjeto para la observación.
19. Se anotó la lectura por grados de aglutinación de 0 a 4+ (anexo 4).

c. Especificad

Técnica:

1. Se preparó una suspensión de glóbulos rojos para los grupos: A, B, AB y O (Rh positivo y negativo) al 5%, los que previamente fueron lavado en solución fisiológica.

2. Se colocó tres filas de 4 tubos de ensayo en una gradilla, marcados con las letras A, B, AB, O y Control.
3. Se colocó en cada tubo, una gota de suspensión de glóbulos rojos al 5%.
4. Se agregó en el tubo rotulado como A, una gota de suero anti A, en el tubo marcado con B, poner una gota de suero anti B, en el tubo AB una gota de suero anti AB
5. Se mezcló perfectamente los tubos.
6. Se centrifugó a 2,500 r p m durante 15 segundos
7. Se retiraron de la centrífuga los tubos cuidadosamente, se evitó que se mezclaran los glóbulos rojos que quedan depositados en el fondo de los tubos y se realizó la lectura mezclando cuidadosamente el botón del fondo, uno por uno, y se buscó aglutinación.
8. Se observó si había aglutinación, se comprobó si el líquido era claro; cuando los eritrocitos formaron pequeñas aglutinaciones, el resultado fue positivo. Si el resultado es negativo, los glóbulos rojos se distribuyeron uniformemente por el líquido.
9. Se reportó de acuerdo a la intensidad del grupo y al color del líquido sobrenadante, de una o varias cruces, hasta cuatro.
10. Se observó al microscopio cuando hubo dudas en la lectura, o se incubaron los tubos a 37° C. durante 30 minutos con 2 gotas de Albúmina (30 o 22%).
11. Se repitió el Inciso 7 por 30 segundos.
12. Se retiraron de la centrifuga los tubos cuidadosamente, se evitó que se mezclaran los glóbulos rojos que quedan depositados en el fondo de los tubos y se realizó la lectura mezclando cuidadosamente el botón del fondo, uno por uno, se buscó aglutinación.
13. Se observó si existió aglutinación, se comprobó si el líquido era claro; cuando los hematíes forman pequeñas aglutinaciones, el resultado fue positivo y fue negativo, cuando los glóbulos rojos se distribuyeron uniformemente por el líquido.
14. Se reportó de acuerdo a la intensidad del grupo y al color del líquido sobrenadante, de una o varias cruces, hasta cuatro.
15. Se observó al microscopio cuando hubo dudas en la lectura, o se incubaron los tubos a 37° C. durante 30 minutos con 2 gotas de Albúmina (30 o 22%).

16. Se reportó de acuerdo a la intensidad del grupo y al color del líquido sobrenadante, de una o varias cruces, hasta cuatro.
17. Se repitió el inciso 7 por 1 minuto.
18. Se retiraron de la centrifuga los tubos cuidadosamente para evitar que se mezclaran los glóbulos rojos que quedan depositados en el fondo de los tubos y se realizó la lectura mezclando cuidadosamente el botón del fondo, uno por uno, para buscar si existe aglutinación.
19. Se observó si había aglutinación, se comprobó si el líquido era claro; cuando los hematíes forman pequeñas aglutinaciones, resultado fue positivo y es negativo, cuando los glóbulos rojos se distribuyeron uniformemente por el líquido.
20. Se reportó de acuerdo a la intensidad del grupo y al color del líquido sobrenadante, de una o varias cruces, hasta cuatro.
21. Se observó al microscopio cuando hubo dudas en la lectura, o se incubaron los tubos a 37° C. durante 30 minutos con 2 gotas de Albúmina (30 o 22%).
22. Se anotó la lectura por grados de aglutinación de 0 a 4+ (Anexo 5).

d. Titulación

Técnica

1. Se realizaron diluciones dobles seriadas del mismo antisuero a analizar.
2. Se colocaron en una gradilla una serie de 11 tubos de ensayo 10 X 75 por cada suero a analizar.
3. Se marcaron los tubos como: T2, T4, T8, T16, T32, T64, T128, T256, T512, T1024...
4. Se agregó a cada uno de ellos, excepto al primero, 0.1 ml de solución salina o solución salina tamponada (PBS).
5. Se agregó 0.1 ml del suero a probar al tubo T y al tubo 2, únicamente.
6. Se mezcló perfectamente el contenido del tubo 2 y se transfirieron 0.1 ml de esa solución al tubo siguiente; se repitió este procedimiento hasta el último tubo.
7. Se descartó 0.1ml del último tubo.
8. Se agregó 0.1ml de Suspensión de hematíes (2-5%) a todos los tubos.
9. Se mezcló y centrifugó a 15 segundos a 2500 rpm.
10. Se observó el resultado y reportó el tubo que presentó aglutinación.

11. Se repitieron los incisos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8.
12. Se mezcló y centrifugó por 30 segundos a 2500 rpm.
13. Se observó los resultados y se reportó el tubo que presentó aglutinación.
14. Se anotó la lectura por grado de aglutinación de 1+ a 4+
15. Se repitieron los incisos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8.
16. Se mezcló y centrifugó por 1 minuto a 2500 rpm.
17. Se observaron los resultados y reportó el tubo que presentó aglutinación
18. Se anotó la lectura por grado de aglutinación de 1+ a 4+ (Anexo 6-7).

E. Diseño Experimental

- Muestra y Muestreo

Se estudiaron 7 antisueros que utilizan los distintos Bancos de Sangre del área metropolitana. La evaluación física, como la apariencia, etiquetado, color entre otros, se realizó con el propósito de saber si cumplieron con las especificaciones del departamento de Registro y Control de Medicamentos y Afines.

Por el tipo de investigación, es un estudio descriptivo-analítico y no hubo la necesidad de utilizar un diseño estadístico como tal, debido a que los parámetros a investigar como: Examen físico, Especificidad, Potencia, Avidéz y Título, son unidades experimentales que no son manipulados, tampoco aleatorios, sino parte de las pruebas sistemáticas independientes, a diferencia del Ensayo Clínico que se caracteriza por: la elección de las variantes del factor causal que se requiere investigar y las unidades experimentales, se asignan aleatoriamente a dichas variantes.

Como resultado final, estas unidades experimentales serán las que ayudaran a determinar la calidad de los antisueros y verificar si cumplen o no con los estándares establecidos.

Dichos datos se recopilaron en los instrumentos diseñados para este estudio.

VI. RESULTADOS

Los aspectos técnicos fueron evaluados directamente por la dirección General de Regulación, Vigilancia y Control de la Salud, al conceder el registro sanitario; algunos de los antisueros analizados no aparecen dentro del listado enviado, por lo que se contactó a algunas de las casas comerciales para que enviaran sus registros sanitarios. Cabe resaltar que, dentro de las especificaciones a evaluar de los reactivos de diagnóstico, es que el inserto debe estar en español y un reactivo no cumplió con esto. Se evidenció que la dirección General de Regulación, Vigilancia y Control de la Salud no cuenta con archivados actualizados de los registros de los afines y específicamente de los reactivos de diagnóstico.

Todos los antisueros fueron evaluados conforme la parte experimental, teniendo los siguientes resultados.

Tabla1. Potencia, avidéz y Especificidad del Antisuero A

Reactivos	Avidéz				Especificidad	Potencia
	Tiempo en segundos					
	Tubo			Lamina		
	15	30	60		Cumple/No Cumple	Positivo 0 a 4+
1	4+	4+	4+	5	Cumple	4+
2	4+	4+	4+	8	Cumple	4+
3	4+	4+	4+	8	Cumple	4+
4	4+	4+	4+	8	Cumple	4+
5	4+	4+	4+	8	Cumple	4+
6	4+	4+	4+	10	Cumple	4+
7	4+	4+	4+	8	Cumple	4+

Fuente: Datos Experimentales

Se puede observar que los resultados en tubo de los reactivos Anti-A, cumplen con el tiempo de 15 segundos; también se nota que el tiempo no influye en la cantidad de aglutinación observada (Potencia), mientras que en lámina el reactivo 1 tuvo la mejor avidéz que los demás, 5 segundos. Sin embargo, todos cumplen con el tiempo máximo de 15 segundos tanto en tubo como en lámina. Además, todos tienen especificidad para Anti A.

Tabla 2. Potencia, Avidéz y Especificidad del Antisuero B

Reactivos	Avidéz				Especificidad	Potencia
	Tiempo en segundos					
	Tubo			Lamina	Cumple/No Cumple	Positivo 0 a 4+
	15	30	60			
1	4+	4+	4+	5	Cumple	4+
2	4+	4+	4+	8	Cumple	4+
3	4+	4+	4+	8	Cumple	4+
4	4+	4+	4+	8	Cumple	4+
5	4+	4+	4+	8	Cumple	4+
6	4+	4+	4+	10	Cumple	4+
7	4+	4+	4+	8	Cumple	4+

Fuente: Datos Experimentales

Al igual que el antisuero A, el antisuero B, tuvo los mismos resultados en Avidéz, Potencia y Especificidad; no hubo ninguna diferencia entre ambos reactivos en estas especificaciones.

Tabla 3. Potencia, Aidez y Especificidad del Antisuero AB

Reactivos	Aidez				Especificidad	Potencia
	Tiempo en segundos					
	Tubo			Lamina		
	15	30	60		Cumple/No Cumple	Positivo 0 a 4+
1	SR	SR	SR	SR	SR	SR
2	SR	SR	SR	SR	SR	SR
3	SR	SR	SR	SR	SR	SR
4	SR	SR	SR	SR	SR	SR
5	4+	4+	4+	8	Cumple	4+
6	4+	4+	4+	10	Cumple	4+
7	SR	SR	SR	SR	SR	SR

SR: Sin resultado

Fuente: Datos Experimentales

En los que respecta al reactivo de Anti-AB únicamente se analizaron 2 reactivos, los cuales cumplen tanto en tubo como en lámina. Cabe mencionar que las casas comerciales ya no traen este reactivo, ya que los laboratorios y Bancos de Sangre ya no lo utilizan para la realización del grupo sanguíneo, evidenciándose que en las distribuidoras ya no se consiguen.

Tabla 4. Potencia, Aidez y Especificidad del Antisuero Rh

Reactivos	Aidez				Especificidad	Potencia
	Tiempo en segundos					
	Tubo			Lamina		
	15	30	60		Cumple/No Cumple	Positivo 0 a 4+
1	NFD	NFD	NFD	NFD	SR	SR
2	3+	3+	3+	12	Cumple	3+
3	3+	3+	3+	15	Cumple	3+
4	4+	4+	4+	8	Cumple	4+
5	4+	4+	4+	8	Cumple	4+
6	4+	4+	4+	10	Cumple	4+
7	4+	4+	4+	8	Cumple	4+

NFD: No fue donado

Fuente: Datos Experimentales

Se puede observar que la mayoría cumple con las especificaciones tanto en lámina como en tubo, pero la Potencia de los reactivos 2 y 3 es menor que en los reactivos de Anti A y B, lo cual en la práctica puede dar problemas con la tipificación del Rh.

Título

Este parámetro fue el que presento mayor variación en cada uno de los reactivos analizados.

Anti-A

En la tabla 5 se puede observar que los reactivos 1, 3, 4, 5, 6, 7 cumplen con las especificaciones de la Comunidad Europea (CE), pero los reactivos 4 y 7 cumplen con las dos especificaciones, sin importar el tiempo de centrifugación. Los reactivos 5 y 6 necesitan de un tiempo de 30 y 60 segundos de centrifugación para cumplir con la Asociación Americana de Bancos de Sangre. El antisuero 2 es el único que no cumple con

ninguna de las especificaciones internacionales, ya que se obtuvo un título de 1:64 (CE, AABB).

Anti-B

Como se observa en la tabla 6, los reactivos 1, 4, 6 y 7, cumplen con las especificaciones de CE y AABB, sin importar el tiempo de centrifugación.

El reactivo 3 necesita de más tiempo de centrifugación para cumplir con la Norma Europea. Los reactivos 4 y 7 presentan un título mayor de 1:512 sin importar el tiempo de centrifugación, mientras que el reactivo 5 se obtuvo un título de 1:512 a los 30 segundos y 1 minuto. El reactivo 6 no presentó las mismas características del antisuero A, ya que no aumentó su título a un mayor tiempo de centrifugación. El reactivo 2 no cumple con ninguna de las especificaciones internacionales, ya que el título obtenido es de 1:64 al igual que el antisuero Anti-A.

Anti-AB

En la tabla 7, se puede observar que los únicos antisueros analizados cumplen con las especificaciones internacionales y necesitan un tiempo de 30 minutos para cumplir con la Norma Americana.

Anti-Rh

En la tabla 8, se evidencia que los reactivos 2, 4, y 7 cumplen con las especificaciones internacionales con un título de 1:64, los reactivos 4,7 son los reactivos con el mayor título obtenido de 1:256, y el reactivo 4 es el único que presenta la mejor Potencia durante su reacción en los distintos títulos. Los reactivos 3 y 6 no cumplen con el título mínimo, ya que se obtuvo un título de 1:32.

Tabla 5. Título de antisuero A

Reactivos	Tiempo	Título									
		2	4	8	16	24	32	64	128	256	512
1	15 seg.	4+	4+	4+	4+	3+	2+	+	+	0	0
	30 seg.	4+	4+	4+	4+	3+	2+	+	+	0	0
	60 seg.	4+	4+	4+	4+	3+	3+	2+	+	0	0
2	15 seg.	4+	4+	4+	3+	2+	+	0	0	0	0
	30 seg.	4+	4+	4+	3+	3+	+	0	0	0	0
	60 seg.	4+	4+	4+	3+	3+	+	0	0	0	0
3	15 seg.	4+	4+	4+	3+	2+	+	+	+	0	0
	30 seg.	4+	4+	4+	4+	2+	2+	+	+	0	0
	60 seg.	4+	4+	4+	4+	3+	3+	+	+	0	0
4	15 seg.	4+	4+	4+	4+	3+	3+	2+	2+	+	+
	30 seg.	4+	4+	4+	4+	3+	3+	2+	2+	+	+
	60 seg.	4+	4+	4+	4+	3+	3+	2+	2+	+	+
5	15 seg.	4+	4+	3+	3+	3+	2+	2+	+	0	0
	30 seg.	4+	4+	4+	3+	3+	3+	2+	+	+	0
	60 seg.	4+	4+	4+	3+	3+	3+	2+	+	+	0
6	15 seg.	4+	4+	4+	4+	3+	2+	+	+	0	0
	30 seg.	4+	4+	4+	4+	3+	2+	+	+	+	0
	60 seg.	4+	4+	4+	4+	4+	2+	+	+	+	0
7	15 seg.	4+	4+	4+	4+	4+	2+	2+	+	+	+
	30 seg.	4+	4+	4+	4+	4+	2+	2+	+	+	+
	60 seg.	4+	4+	4+	4+	4+	2+	2+	+	+	+

Criterio CE

Criterio AABB

Fuente: Datos Experimentales

Tabla 6. Título de antisuero B

Reactivos	Tiempo	2	4	8	16	32	64	128	256	512	
		1	15 seg.	4+	4+	4+	4+	3+	2+	+	+
	30 seg.	4+	4+	3+	3+	3+	2+	+	+	0	
	60 seg.	4+	4+	4+	4+	3+	3+	2+	+	0	
2	15 seg.	4+	4+	4+	3+	2+	+	0	0	0	
	30 seg.	4+	4+	4+	3+	3+	+	0	0	0	
	60 seg.	4+	4+	4+	3+	3+	+	0	0	0	
3	15 seg.	4+	4+	4+	3+	2+	+	0	0	0	
	30 seg.	4+	4+	4+	4+	3+	2+	+	0	0	
	60 seg.	4+	4+	4+	4+	3+	3+	+	0	0	
4	15 seg.	4+	4+	4+	3+	3+	3+	2+	2+	+	
	30 seg.	4+	4+	4+	4+	3+	3+	2+	2+	+	
	60 seg.	4+	4+	4+	4+	3+	2+	2+	+	+	
5	15 seg.	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	
	30 seg.	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	
	60 seg.	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	
6	15 seg.	4+	4+	3+	3+	2+	2+	+	+	0	
	30 seg.	4+	4+	3+	3+	2+	2+	+	+	0	
	60 seg.	4+	4+	4+	4+	3+	2+	+	+	0	
7	15 seg.	4+	4+	4+	4+	4+	2+	2+	+	+	
	30 seg.	4+	4+	4+	4+	4+	2+	2+	+	+	
	60 seg.	4+	4+	4+	4+	4+	2+	2+	+	+	
Criterio CE	Criterio AABB	SR: Sin Resultados					Fuente Datos Experimentales				

Tabla 7. Título de antisuero AB

Reactivos	Tiempo	Titulo									
		2	4	8	16	24	32	64	128	256	512
1	15 seg.	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR
	30 seg.	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR
	60 seg.	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR
2	15 seg.	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR
	30 seg.	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR
	60 seg.	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR
3	15 seg.	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR
	30 seg.	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR
	60 seg.	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR
4	15 seg.	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR
	30 seg.	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR
	60 seg.	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR
5	15 seg.	4+	4+	3+	3+	3+	2+	2+	+	0	0
	30 seg.	4+	4+	4+	3+	3+	3+	2+	+	+	0
	60 seg.	4+	4+	4+	3+	3+	3+	2+	+	+	0
6	15 seg.	4+	4+	4+	4+	3+	2+	+	+	0	0
	30 seg.	4+	4+	4+	4+	3+	2+	+	+	+	0
	60 seg.	4+	4+	4+	4+	4+	2+	+	+	+	0
7	15 seg.	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR
	30 seg.	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR
	60 seg.	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR
Creiterio CE	Creiterio AABB	SR: Sin Resultado					Fuente: Datos Experimentales				

Tabla 8. Título de antisuero Rh

Reactivos	Tiempo	2	4	8	16	32	64	128	256	512
		1	15 seg.	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR
	30 seg.	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR
	60 seg.	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	SR
2	15 seg.	4+	4+	4+	3+	2+	+	0	0	SR
	30 seg.	4+	4+	4+	3+	3+	+	0	0	SR
	60 seg.	4+	4+	4+	3+	3+	+	0	0	SR
3	15 seg.	4+	2+	+	+	+	0	0	0	SR
	30 seg.	4+	3+	3+	+	+	0	0	0	SR
	60 seg.	4+	3+	2+	+	+	0	0	0	SR
4	15 seg.	4+	4+	4+	4+	3+	3+	2+	+	SR
	30 seg.	4+	4+	4+	4+	3+	3+	3+	2+	SR
	60 seg.	4+	4+	4+	4+	3+	3+	3+	2+	SR
5	15 seg.	4+	4+	3+	3+	2+	2+	+	+	SR
	30 seg.	4+	4+	3+	3+	2+	2+	+	+	SR
	60 seg.	4+	4+	3+	3+	2+	2+	+	+	SR
6	15 seg.	4+	2+	2+	+	+	0	0	0	SR
	30 seg.	4+	3+	2+	+	+	0	0	0	SR
	60 seg.	4+	3+	2+	+	+	0	0	0	SR
7	15 seg.	4+	4+	3+	2+	+	+	+	0	SR
	30 seg.	4+	4+	4+	3+	2+	+	+	+	SR
	60 seg.	4+	4+	4+	4+	3+	3+	2+	+	SR

Criterios CE y AABB

SR: Sin Resultados

Fuente: Datos Experimentales

VII. DISCUSION

La excelencia es meta de todas las especialidades de la Salud, la medicina transfusional ha sido una de las que más medidas ha adoptado en los últimos años para lograrla. Ello se debe a que esta especialidad se sitúa en el punto de mira de la sociedad en general y a que las transfusiones sanguíneas siguen presentando riesgos, aunque sean mínimos, para la salud de los receptores (Franco, 2003).

La correcta tipificación de las muestras sanguíneas y la detección de anticuerpos irregulares en todas las donaciones de sangre constituyen una parte crucial del proceso de garantizar que la transfusión cumpla con sus objetivos terapéuticos sin provocar efectos indeseados, ya que algunos podrían poner en riesgo la vida del paciente.

La mayoría de los países han adoptado leyes aplicables a la terapia transfusional, tanto en sus aspectos organizativos como en los eminentemente técnicos, para garantizar la seguridad de la transfusión sanguínea. Por esta razón, se ha superado progresivamente el concepto de control de calidad y actualmente se habla de la “garantía de la calidad”, la cual es necesaria para ejercer un estricto control sobre todo el sistema y de establecer y observar protocolos para todos los pasos, desde la obtención de la sangre del donante hasta su administración al receptor (Radillo G, 1999).

En Guatemala existen normas y especificaciones para Control sanitario de los medicamentos y productos afines, pero no específicamente para los de diagnóstico clínico ya que están clasificados dentro de los productos afines. Las que se realizaron en el estudio, en la actualidad, no suelen ser verificadas en la actualidad.

Todos los reactivos analizados muestran que los aspectos de Aidez, y Especificidad, están dentro de las especificaciones de AABB y CE, donde no mostraron diferencia entre uno y otro (A, B, AB). Pero es de hacer notar que el reactivo 1 presento mejor Aidez en lámina (5 segundos). En lo que respecta a tubo, se observó que la Aidez y Potenciación no se ven influenciados por el tiempo de centrifugación (15, 30 segundos y 1 minuto).

En lo que respecta a la potenciación del Rh, los reactivos 2 y 3 fueron los que presentaron menos potenciación (3+).

Uno de los aspectos estudiados que presentó mayor variación fue el título donde, se puede observar que el reactivo 2, no cumple con el título mínimo para los reactivos A y B. Los reactivos 4 y 7 obtuvieron los títulos más altos (1:512). En lo que respecta al tiempo de centrifugación, solamente influyó en la potencia de la reacción. Por último, se puede concluir que los únicos reactivos que fueron evaluados para AB cumplen con las especificaciones de la AABB y CE.

En lo que respecta al Rh, dos reactivos (3 y 6) no cumplieron con el título mínimo recomendado por la AABB y CE, ya que se obtuvo un título menor a 1:64. El reactivo 4 fue el que obtuvo el mayor título (1:512).

VIII. CONCLUSIONES

1. Se comprobó la calidad de los antisueros A, B, AB y Rh, en las pruebas inmunohematológicas utilizados en Guatemala, mediante la evaluación de la Aidez, Especificidad y Potencia dando a conocer que los mismos son aptos para su utilización.
2. En lo que respecta a la Aidez de los Antisueros A, B, AB utilizados en el estudio, el reactivo 1 fue el que tuvo mejor Aidez, en lámina, con un tiempo de 5 segundos, mientras que el reactivo 6, presento una aizdez de 10 segundos.
3. En la actualidad en antisuero AB ya no es muy utilizado, por lo que se pudo evidenciar en el estudio. De los 7 analizados solo los reactivos 5 y 6 se encontró en el comercio y si cumplen con la Aidez, Especificidad y Potencia
4. En lo que respecta al Rh la Aidez en lámina, los reactivos 2 y 3 presentaron mayor tiempo de aizdez (12 y 15 respectivamente).
5. Los antisueros 2 y 3, presentaron baja potencia para el Rh, tanto en lámina como en tubo.
6. No hubo diferencia en el tiempo utilizado para centrifugación de los antisueros A, B, AB y Rh, en la evaluación de la Aidez, Especificidad y Potencia.
7. El título, fue un parámetro con más variación, en donde se puede decir que el antisuero A, B, del reactivo 2 (1:64), no cumple con las normas de la Comunidad Europea y la Asociación Americana de Bancos de Sangre.
8. Los reactivos 4 y 7 (A y B), son los que presentan un título mayor (1:512) en comparación a los antisueros analizados.
9. El reactivo 4 es el que presenta mayor título para el Rh (1:512)
10. Los reactivos 3 y 6 no cumplen con el título mínimo (1:64) para el Rh.

IX. RECOMENDACIONES

1. Que el departamento de Regulación y Control de Productos Farmacéuticos y Afines, tenga un mejor control de la información de los productos de Diagnóstico Clínico, específicamente los Antisueros.
2. Que se cree una norma técnica para los reactivos de Hemoclasificadores o antisueros ya que solo se tienen especificaciones físicas.
3. Elaborar guías de control de calidad interno en Inmunohematología que incluya los controles a realizar para las nuevas tecnologías y revisar los controles existentes.
4. Realizar capacitación en control de calidad en Inmunohematología a la Red de bancos de sangre, para lograr la implementación total del control de calidad interno.
5. Eliminar la avidéz en lámina, este método, ya no debe utilizarse.

X. REFERENCIAS

- AABB. (2015). *Manual técnico y Estándares* (17th ed.). [CD-Rom]. Maryland.
- Aburto, A. (2013). Recomendaciones para la Clasificación Sanguínea ABO. *Documento Técnico*. Recuperado el 17 de octubre del 2017. De <http://www.ispch.cl/sites/default/files/documento/2013/04/rec-clasificacionsanguinaabo.pdf>
- Asociación Argentina de Hemoterapia e Inmunohematología. (2004). *Manual Técnico*. Vol. XXXVII (#4) 475 pags.
- Batista, L. S., Jiménez, R. R., Pérez Pérez, N., Hernández, A. B., Barbosa, F. T., Solís, M. M., ... Obaya, T. R. (1999). Reactivo hemoclasificador monoclonal cubano hemo-cim anti-A. Estudio de estabilidad. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia Vol 15(2) 137-43*.
- Benalcázar, L. (2014). Determinación de la capacidad de detección de los reactivos monoclonales y policlonales utilizados para la identificación del antígeno (d) en técnica de tubo Quito. Recuperado el 13 de septiembre del 2017. De <http://repositorio.puce.edu.ec/handle/22000/9630>
- Bustamante, A. (2010). Evaluación de la Calidad de Reativos en Inmunohematología. Recuperado el 8 de septiembre del 2018. De http://ftp2.minsa.gob.pe/descargas/digdot/diban/informacion/cursos/modulo8_control_calidad_inmunohematologia.pdfPeru.
- Castillo Cuadrado, E. V., & Lara Samaniego, M. F. (2013). *Selectividad de la calidad de antisueros y medios de reacción, empleados en la realización de las pruebas inmunohematológicas, mediante la titulación de la intensidad de reacción, al enfrentarlos con muestras de sangre y plasma de los hemoderivados que of*. Riobamba. Recuperado el 17 de septiembre del 2017. De <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/1073>
- Delia, N., Herrera, R., Paulo, H., Gutierrez, A., Bacterióloga, C., & De La Dirección, R. (2010). Control de Calidad Interno de los Antisueros. Recuperado 30 de julio del 2017. De <http://santamargarita.gov.co/intranet/pdf/Otros/protocolodeinmunologia.pdf>
- Escalante, M. (2010). Boletín Informativo No. 2 “SALUD TRANSFUSIONAL” Volumen 3, Número 14, enero 2010., 3. Recuperado el 17 de septiembre del 2017. De [http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Red-Nacional-Laboratorios/Publicacio/Boletin Tecnico Diagnostico Inmunohematologia.pdf](http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Red-Nacional-Laboratorios/Publicacio/Boletin_Tecnico_Diagnostico_Inmunohematologia.pdf)
- Franco, E. (2003). El control de la calidad de los análisis inmunohematológicos en la Región de las Américas. *Revista Panamericana de Salud Pública*. Recuperado el 30 de

- julio del 2017. De <https://doi.org/10.1590/S1020-49892003000200022>
- Garibay, A. (2006). *Manual de prácticas de inmunología*. México: Universidad de Sonora. Recuperado el 17 de septiembre del 2017. De https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=h_zIHShPVtkC&oi=fnd&pg=PA9&dq=control+de+calidad+de+hemoclasificadores&ots=kbqUcNkgny&sig=K0-4aLS9T-2YHXvNWIJUXqOyiuc#v=onepage&q&f=false
- Hernández, V. (2009). *Manual de Procedimientos para Inmunología: Banco de Sangre*. Nacional Autónoma de México. Recuperado el 16 de septiembre del 2017. De <http://avalon.cuautitlan2.unam.mx/biblioteca/tesis/257.pdf>
- Kajii, E., Usuda, S., & Ikemoto, S. (1990). Characterization of a monoclonal crossreacting anti-A, B antibody. *Nihon Hoigaku Zasshi = The Japanese Journal of Legal Medicine*. Recuperado el 17 de septiembre del 2017. De <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2232333>
- Leyva, J. L., Gallardo, E. T., Luberta, A. L., & Reyes, I. T. (2000). *Obtención de sustancia específica de grupo AB a partir de meconio*. Habana, Cuba. Recuperado el 17 de septiembre del 2017. De http://www.bvs.sld.cu/revistas/uni/vol1_2_00/uni05200.pdf
- Linares, J. (1999). *Inmunoematología y Transfusión*. Caracas: Editoreal Viamonte, Ed.) (Quinta).
- López, D., Jiménez, C., Cabrera, A., & Sánchez, M. (2009). Verificación de la funcionalidad de los reactivos hemoclasificadores (sistema ABO y Rh) como parte del control de calidad interno. *Bioquímica*. Recuperado el 17 de septiembre del 2017. De <http://new.medigraphic.com/cgi-bin/resumen.cgi?IDARTICULO=19917>
- Ministerio de salud, G. (1999). *ACUERDO GUBERNATIVO NUMERO 712-99*. Guatemala. Recuperado el 12 de agosto del 2018. De: http://asisehace.gt/media/ag_712_99.pdf
- Ministerio de salud, G. (2015). *Dirección General de Regulación, Vigilancia y Control de la Salud. Departamento de Regulación y Control de Productos Farmacéuticos y Afines*. Guatemala. Recuperado el 12 de agosto del 2018. De http://asisehace.gt/media/NORMATIVA_44.pdf
- Norma Mexicana. (1993). NOM-017-SSA1-1993. Recuperada el 24 de septiembre del 2017, De <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/017ssa13.html>
- Novaretti, M. C. Z., Bonifácio, S. L., Medeiros, V. R., Ruiz, A. S., Dorlhiac-Llacer, P. E., & Chamone, D. A. F. (2009). Dez anos de experiência em controle de qualidade em imuno-hematologia. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*. Recuperada el 4 agosto del 2017. De <https://doi.org/10.1590/S1516-84842009005000052>
- Paredes, J. (2008). Control de calidad en Inmunoematología. In *Control de Calidad en*

- Banco de Sangre* (pp. 41–43). Peru.
- Perez, M. (2004). Gestión de Calidad para Servicios de Sangre. *Biblioteca OPS*.
- Radillo, A. (1999). *Medicina Transfusional*. México: Prado.
- Republica Doninicana, G. (2004). *Reglamento para el Registro de Reactivos*. Recuperado el 12 de agosto del 2018. De http://www.msp.gov.do/oai/Documentos/Decretos/DECR_351-04_EstableceRegRegistroReactiDiag_20130127.pdf
- Rivero, R., Suárez, L., Bencomo, A. A., González, R. A., González, J. M., Ballester, J. M., ... Aviñó, J. L. (2004). Obtención de un reactivo monoclonal hemoclasificador Anti-A para el sistema de grupos sanguíneos ABO. *Biotechnología Aplicada*, 21(3). Recuperado el 17 de septiembre del 2017. De <http://elfosscientiae.cigb.edu.cu/PDFs/BiotechnolApl/2004/21/3/BA002103RP167-171.pdf>
- Rodríguez, H. (2004). *El Banco de Sangre y la Medicina Transfusional*. (Panamericana, Ed.) (Primera). México.
- Salud Publica, C. (2016). *Evaluacion de los Reactivos Inmuno hematologicos*. Santiago de Chile, Chile. Recuperado el 24 de septiembre del 2017. De http://www.ispch.cl/sites/default/files/documento_tecnico/2016/06/MINUTA_TECNICA_HEMATOLOGIA_28_06_2016.pdf
- Sánchez-Guerrero, S. A. (2010). La seguridad de la transfusión sanguínea en México. *Medicina Universitaria*, 12(46), 79–83. Recuperado el 15 de marzo 2018. De www.elsevier.com.mx
- Thorpe, S. J., Fox, B., Heath, A. B., Scott, M., Haas, M., Kochman, S., & Padilla, A. (2006). An International Standard for specifying the minimum potency of anti-D blood-grouping reagents: evaluation of a candidate preparation in an international collaborative study. *Vox Sanguinis*, 90(2), 131–139. Recuperado el 17 de septiembre del 2017. De <https://doi.org/10.1111/j.1423-0410.2005.00735.x>
- Thorpe, S. J., Fox, B., Sharp, G., White, J., & Milkins, C. (2016). A WHO reference reagent to standardize haemagglutination testing for anti-A and anti-B in serum and plasma: international collaborative study to evaluate a candidate preparation. *Vox Sanguinis*, 111(2), 161–170. Recuperada el 17 de septiembre del 2017. De <https://doi.org/10.1111/vox.12399>
- Vives, L. (1997). *Manual de Técnicas de Laboratorio en Inmuno hematología* (2da ed.). Barcelona, España: Masson.

XI. ANEXOS

Anexo 1.

ASPECTOS TÉCNICOS.

- Apariencia física del empaque, sello de garantía.
- Ausencia de alteraciones producida durante el traslado y/o almacenamiento.
- Nombre del producto.
- Fecha de caducidad.
- Instructivo.
- Color de la etiqueta, rosca y bulbo.
- Volumen.
- Color del suero.
- Transparencia.
- Hemólisis.
- Temperatura de almacenamiento.



ASPECTOS FISCOQUÍMICOS

- Especificidad,
- Avidéz (título)



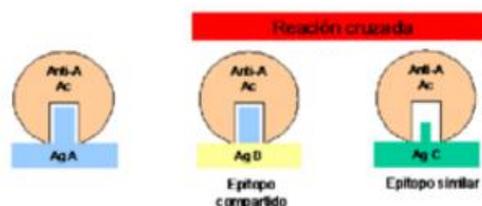
Fuente: <http://documentslide.com/documents/6-banco-de-sangre-control-de-calidad-en-banco-de-sangrepptx.html>

Anexo 2.

Definiciones de Especificidad, afinidad o potencia y Avidéz.

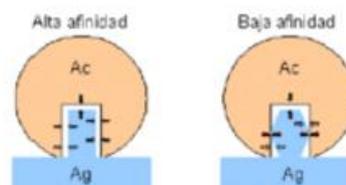
ESPECIFICIDAD:

Es la reactividad selectiva de un anticuerpo con su correspondiente antígeno, evitando reacción cruzada con antígenos diferentes.



AFINIDAD:

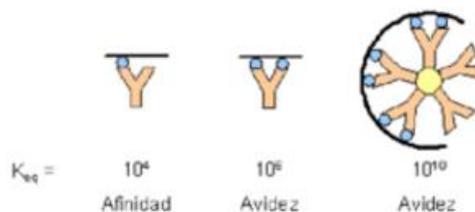
Está determinada por la concentración de antígeno que se requiere para ocupar la mitad de los sitios de unión de anticuerpos en una solución. A menor concentración de antígeno necesaria, mayor afinidad de los anticuerpos.



AVIDEZ.

Es la intensidad de la interacción entre el antígeno y el anticuerpo, depende de la afinidad y la valencia de las interacciones.

La avidéz de un anticuerpo IgM por un antígeno multivalente es superior a la avidéz de un anticuerpo de IgG por ese mismo antígeno.



Fuente <http://documentslide.com/documents/6-banco-de-sangre-control-de-calidad-en-banco-de-sangrepptx.html>

Anexo 3.

Avidez de los distintos hemoclasificadores.

TIEMPO PROMEDIO DE AVIDEZ PARA LOS DIFERENTES SUEROS		
ANTISUERO	CÉLULAS	Tiempo máximo de aglutinación visible en segundos
Anti A	A1	15
	A2	20
	A1B	15
	A2B	30
Lectina H	A2	60
Coombs	Células Sensibilizadas	60
Lectina A	A1	30
Anti B	B	15
	A1B	15
	A2B	15
Anti AB	A1	15
	A2	20
	B	15
	A1B	30
	A2B	45
Anti D	R1r	30

TÉCNICA PARA DETERMINAR LA AVIDEZ

1. En una placa de vidrio realizar las combinaciones individuales de la tabla, utilizando dos gotas de eritrocitos al 5% en solución salina y dos gotas de antisuero sin mezclar.
2. Mezclar individualmente cada combinación con un aplicador de madera y al mismo tiempo accionar el cronometro.
3. Continuar con movimiento rotatorio con las manos y estar atento al momento en que aparece la aglutinación visible para detener el cronometro.
4. Anotar el tiempo de avidez de cada antisuero visualizando los inicios de aglutinación.

Fuente. <http://documentslide.com/documents/6-banco-de-sangre-control-de-calidad-en-banco-de-sangrepptx.html>

Anexo 4.

Potenciación o afinidad de los distintos antisueros

Registrar los resultados obtenidos de acuerdo a la siguiente tabla de intensidad de reacción:

INTENSIDAD DE REACCIÓN	SCORE O PUNTAJE	AGLUTINACIÓN TUBO/MICROPLACA	AGLUTINACIÓN GEL
4+	12	Botón único. Fondo claro. Sin células libres.	Banda homogénea de aglutinados en la parte superior de la columna.
3+	10	Varios aglutinados de gran tamaño. Fondo claro. Sin células libres.	Banda superior de aglutinado y desplazamiento en la parte superior de la columna.
2+	8	Muchos aglutinados de mediano tamaño. Fondo claro. Sin células libres.	Aglutinados pequeños en la columna y a lo largo de la columna.
1+	5	Numerosos aglutinados pequeños. Fondo turbio por GR libres.	Algunos aglutinados pequeños en la columna.
+/-	2	Apenas la aglutinación es visible. Fondo turbio por GR libres.	Escasos aglutinados de pequeño tamaño en la columna.
0	0	Ausencia de aglutinación	Banda de GR al fondo de la columna, resto de la columna sin aglutinados.

Anexo 5.

Especificidad de los distintos hemoclasificadores

	CÉLULAS CONOCIDAS					
SUERO	A1	A2	B	0	R1r	Rr
Anti - A	4+	4+	0	0		
Anti - B	0	0	4+	0		
Anti - AB	4+	4+	4+	0		
Anti - D					4+	0

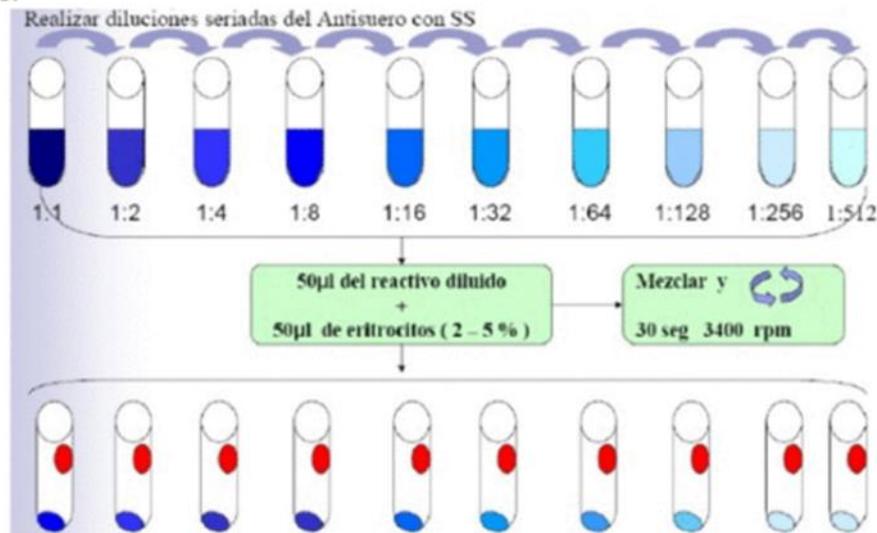
Fuente.

avalon.cuautitlan2.unam.mx/biblioteca/tesis/257.pdf.

Anexo 6.

TÉCNICA PARA LA TITULACION DE ANTISUEROS

- Esta prueba mide la máxima dilución del antisuero a la cual es capaz de reaccionar con sus respectivas células. El resultado se expresa como la máxima dilución que de una aglutinación de 1+ ante un volumen constante de eritrocitos al 2% de células.
- La titulación se debe realizar en una muestra de antisuero de cada nuevo lote.
- Se debe realizar siempre por duplicado y los resultados deben ser reproducibles.
- Si existen diferencias en la lecturas entre 2 tubos con la misma dilución, debe deber repetirse.



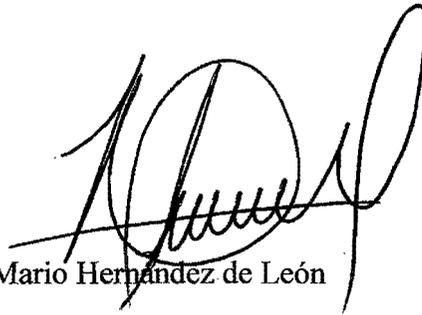
Fuente. <http://documentslide.com/documents/6-banco-de-sangre-control-de-calidad-en-banco-de-sangrepptx.html>

Anexo 7.

Titulación de los distintos antisueros según la AABB.

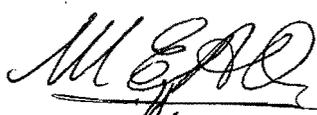
TÍTULOS MÍNIMOS A LOS QUE DEBEN INDUCIR UNA AGLUTINACIÓN DE 1+ LOS DIFERENTES ANTISUEROS		
ANTISUERO	CÉLULAS	TÍTULO MÍNIMO
Anti A	A1	256
	A2	128
	A1B	128
	A2B	8
Lectina H	A2	8
Coombs	Células Sensibilizadas	32
Lectina A	A1	64
Anti B	B	256
	A1B	128
	A2B	64
Anti AB	A1	256
	A2	64
	B	256
	A1B	128
	A2B	64
Anti D	R1r	64

Fuente. <http://documentslide.com/documents/6-banco-de-sangre-control-de-calidad-en-banco-de-sangrepptx.htm>



Jorge Mario Hernández de León

AUTOR



MSc. María Ernestina Ardón Quezada

DIRECTORA



Dr. Rubén Daríel Velásquez Miranda

DECANO