

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

**RASTREO PILOTO DE ANTICUERPOS IRREGULARES DE  
PACIENTES QUE RECIBEN TRANSFUSIONES EN EL BANCO DE  
SANGRE DEL HOSPITAL GENERAL SAN JUAN DE DIOS**

**INFORME FINAL**

**Presentado por**

**Byron Alonzo Rosales**

**Para optar al título de**

**Químico Biólogo**

**GUATEMALA, Octubre 2,008**

## INDICE

<b>I.</b>	<b>Resumen.....</b>	<b>1</b>
<b>II.</b>	<b>Introducción.....</b>	<b>3</b>
<b>III.</b>	<b>Antecedentes</b>	
	A. Clasificación de los sistemas eritrocitarios.....	5
	1. Sistema ABO y Rh	
	a. Sistema ABO.....	5
	b. Sistema RH.....	6
	2. Otros sistemas eritrocitarios	
	a. Sistema Kell.....	7
	b. Sistema Duffy.....	8
	c. Sistema Kidd.....	9
	d. Sistema Lewis.....	10
	e. Sistema MNS.....	11
	f. Sistema P.....	12
	g. Sistema Lutheran.....	13
	B. Reacciones post-transfusionales	
	1. Reacciones post-transfusionales inmediatas o agudas	
	a. Reacciones leves.....	15
	i. Hipersensibilidad leve.....	15
	b. Reacciones moderadamente severas.....	15
	i. Hipersensibilidad moderada-severa.....	15
	ii. Reacciones febriles no hemolíticas.....	15
	iii. Contaminación bacteriana .....	15
	iv. Pirógenos.....	16
	c. Complicaciones que ponen en riesgo la vida.....	16
	i. Contaminación bacteriana y shock séptico.....	16
	ii. Hemólisis aguda intravascular.....	16
	iii. Reacciones anafilácticas.....	16

iv. Injuria pulmonar asociada a transfusiones.....	17
2. Reacciones post-transfusionales retardadas	
a. Infecciones transmitidas.....	17
b. Hemólisis extravascular.....	17
c. Púrpura pos-transfusión.....	18
d. Sobrecarga de hierro.....	19
C. Enfermedad hemolítica del recién nacido	
1. Mecanismo de sensibilización.....	19
2. Etiopatología.....	20
3. Manifestaciones clínicas.....	21
a. Anemia.....	21
b. Obstrucción portal.....	21
c. Edema generalizado, ascitis, derrame pericárdico y pleural.....	21
d. Ictericia.....	21
e. Alteraciones mitocondriales neuronales.....	21
f. Kernicterus.....	21
D. Principios de aglutinación eritrocitaria y procedimientos de rastreo y tipificación de anticuerpos irregulares	
1. Principios de aglutinación eritrocitaria.....	21
a. Factores que afectan la aglutinación eritrocitaria <i>in vitro</i> .....	22
i. Factores relacionados con el antígeno.....	22
ii. Factores relacionados con los anticuerpos.....	22
iii. Condiciones de la reacción.....	22
b. Reacciones de aglutinación bajo condiciones de laboratorio.....	22
i. Primera etapa de la aglutinación.....	22
ii. Segunda etapa de la aglutinación.....	23
2. Técnica de identificación de anticuerpos irregulares.....	24
a. Técnicas de LISS y del polibreno.....	24
b. Técnica de aglutinación en gel.....	25
i. Rastreo de anticuerpos.....	25

	ii. Tipificación de anticuerpos irregulares.....	25
	iii. Identificación del o los anticuerpos.....	25
	3. Rastreo de anticuerpos, detección de anticuerpos pantallas.....	26
	E. Estudios en bancos de sangre.....	26
<b>IV.</b>	<b>Justificaciones.....</b>	<b>30</b>
<b>V.</b>	<b>Objetivos.....</b>	<b>31</b>
<b>VI.</b>	<b>Hipótesis.....</b>	<b>32</b>
<b>VII.</b>	<b>Materiales y Métodos.....</b>	<b>33</b>
<b>VIII.</b>	<b>Resultados.....</b>	<b>40</b>
<b>IX.</b>	<b>Discusión de Resultados.....</b>	<b>47</b>
<b>X.</b>	<b>Conclusiones.....</b>	<b>55</b>
<b>XI.</b>	<b>Recomendaciones.....</b>	<b>56</b>
<b>XII.</b>	<b>Referencias.....</b>	<b>57</b>
<b>XIII.</b>	<b>Anexos.....</b>	<b>65</b>

## II. RESUMEN

Esta investigación tuvo como objetivo principal determinar la frecuencia de anticuerpos irregulares en pacientes internados en el Hospital General San Juan de Dios, en los meses de julio a septiembre del año 2,007, para lo cual se contó con el apoyo de la dirección del banco de sangre de dicha institución. Además de determinar la frecuencia de anticuerpos irregulares en pacientes internados en el hospital, y hacer una clasificación por tipo de anticuerpos irregulares encontrados, también se tomaron en cuenta otros aspectos, tales como: el género, el servicio en el que estaban internados los pacientes y el grupo sanguíneo (ABO y Rh).

Determinar la frecuencia de anticuerpos irregulares (AI's) en el Hospital General San Juan de Dios fue de mucha importancia para el banco de sangre, que no contaba con información estadística relacionada con este tipo de anticuerpos. Dicha información además de reafirmar la necesidad de hacer un rastreo de AI's en todos los pacientes que requieran transfusiones sanguíneas, también será de utilidad en la selección del método más adecuado para implementarlo dentro del protocolo de rutina del banco de sangre, que se aplica en las muestras de los receptores sanguíneos.

El método que se utilizó en este estudio fue el de aglutinación en gel, que consiste en mezclar el suero del paciente con eritrocitos de un kit comercial (Diamed Caribbean). Estos eritrocitos contienen un coctel de antígenos diferentes a los del sistema ABO. La mezcla del suero con los eritrocitos del kit se hace dentro de una tarjeta que contiene un gel, donde después de incubarla y centrifugarla se lleva a cabo la aglutinación eritrocitaria, en caso de que en el suero existan anticuerpos irregulares. Este método de aglutinación en gel se utilizó tanto para el rastreo como para la tipificación de los anticuerpos irregulares.

El diseño estadístico de esta investigación se basó en un estudio longitudinal, donde se estudiaron 200 muestras de pacientes con rastreos positivos para anticuerpos irregulares de un total de 1,111 muestras monitoreadas. Las muestras sanguíneas se tomaron de los

pacientes que habían sido transfundidos dos o más veces previamente, o en el caso de mujeres que sin haber sido transfundidas hubiesen tenido dos o más embarazos con anterioridad. La frecuencia se calculó tomando el número de casos de rastreos positivos para anticuerpos irregulares y se dividió dentro del número total de los pacientes monitoreados.

La frecuencia de anticuerpos irregulares en pacientes internados en el hospital que serían transfundidos fue del 18%. Se rastrearon y tipificaron 15 tipos de anticuerpos irregulares específicos para antígenos de los sistemas Rh-hr, Kell, Kidd, Lewis, Duffy, P, MNS y Lutheran. De ellos, los que se encontraron con mayor frecuencia fueron los anticuerpos Js<sup>a</sup>, E, D y Le<sup>b</sup>, y con menor frecuencia los anticuerpos Lu<sup>a</sup>, P<sub>1</sub> y Jk<sup>a</sup>. Los servicios del hospital en donde se encontró la mayor cantidad anticuerpos irregulares fueron: la emergencia de medicina general, la medicina de hombres, la medicina de mujeres y la emergencia de cirugía.

Finalmente se concluye que la frecuencia de anticuerpos irregulares en pacientes que requerían de una transfusión sanguínea en el hospital General San Juan de Dios, fue del 18% (aproximadamente 1 de cada 5 pacientes). El porcentaje de hombres con anticuerpos irregulares fue del 57.3% y el de las mujeres fue del 42.7%. La distribución porcentual de los grupos sanguíneos en pacientes con anticuerpos irregulares se presentó así: Grupo "O" positivo 64%, grupo "O" negativo 11.5 %, grupo "A" positivo 11%, grupo "B" positivo 10.5%, grupo "AB" positivo 2% y "B" negativo 1%. Y que del total de anticuerpos irregulares encontrados, los que presentaron mayor frecuencia fueron: Js<sup>a</sup>, E, D, Le<sup>b</sup> y Js<sup>b</sup>.

Considerando que la frecuencia en que se encontraron los AI's en esta investigación es muy significativa, se recomienda implementar el rastreo y la tipificación de los anticuerpos irregulares en el banco de sangre del Hospital General San Juan de Dios, para evitar reacciones post transfusionales que pongan en peligro la vida de los pacientes luego de ser transfundidos.

## I. INTRODUCCIÓN

Después de que se realiza una transfusión sanguínea, pueden ocurrir reacciones contra los antígenos que forman parte de los elementos celulares transfundidos, principalmente las que se originan por medio del sistema inmunológico, como lo son la formación de complejos antígeno-anticuerpo que producen aglutinación, y posteriormente la fagocitosis y lisis celulares por macrófagos y monocitos. Las reacciones post transfusionales pueden ocurrir inmediatamente o en un período que varía de horas a días después de la transfusión, así mismo la gravedad de la reacción varía con el tipo de anticuerpo causante de la reacción, y con el título del mismo.

Además del sistema generalmente conocido como ABO y Rh, en la membrana celular del eritrocito también existen muchos otros sistemas de antígenos, que difieren entre sí por su estructura molecular, tamaño, y carácter bioquímico e inmunológico. Estos antígenos al igual que los del sistema ABO y Rh, pueden provocar que el sistema inmunológico produzca anticuerpos específicos contra ellos mismos si son detectados como extraños, en el organismo en que se encuentran. A estos anticuerpos se les denomina anticuerpos irregulares, que son inmunoglobulinas de tipo IgG ó IgM y pueden causar complicaciones como: anemia hemolítica e ictericia, alteraciones nerviosas, fallos cardíacos y respiratorios, y daños metabólicos generalizados.

Para un banco de sangre es de suma importancia poseer información estadística acerca de la presencia de anticuerpos irregulares de la población a la que comúnmente se atiende, pues existen ciertas reacciones que son causadas por AI's que atacan a antígenos eritrocitarios de la sangre que se transfunde. Estas reacciones se pueden prevenir si en el protocolo de rutina del banco de sangre, se incluyen el rastreo y la tipificación de los AI's, tomando como fundamento la información estadística que se recolecte con anticipación.

En la actualidad, el banco de sangre del Hospital General San Juan de Dios, no realiza el rastreo y la tipificación de anticuerpos irregulares en el plasma de todos los

receptores sanguíneos, sino que únicamente en pacientes que presentan incompatibilidad con alguna unidad sanguínea específica. Por lo tanto el rastreo y la tipificación de AI's no son procedimientos de rutina para los pacientes que se han de transfundir.

Considerando que en la actualidad no existe información estadística que justifique la implementación del rastreo y la tipificación de AI's en el protocolo de rutina del banco de sangre del Hospital General San Juan de Dios, las reacciones post transfusionales que pudieran darse, deberán ser tratadas hasta el momento en que el paciente presente los primeros síntomas como: fiebre, ictericia y hemoglobinuria.

De presentarse complicaciones podrían ocasionar fallas respiratorias, renales, y neurológicas que al no tratarse producirán serios daños en la salud del paciente. Estas situaciones de emergencia podrían evitarse por medio del rastreo y la tipificación de anticuerpos irregulares, incorporando dichos procedimientos en el protocolo de rutina para los pacientes que requieran una transfusión sanguínea.

El objetivo de esta investigación fue determinar la frecuencia de anticuerpos irregulares dentro de los pacientes que se encontraban internados dentro del Hospital General San Juan de Dios, en los meses de julio a septiembre del año 2,007. Para ello se analizaron 1,111 muestras de plasma de pacientes que eran mayores de edad, de ambos sexos y que hubiesen tenido como mínimo dos transfusiones previas, y en el caso de mujeres que nunca hubiesen sido transfundidas, pero que hubieran tenido por lo menos dos embarazos.

Las muestras de plasma se analizaron utilizando tarjetas gel de compatibilidad de tipo IgG marca (Diamed Caribbean<sup>®</sup>) y células de rastreo I, II y III (Diamed Caribbean<sup>®</sup>) para una determinación inicial, y para la determinación final (en caso de que la determinación inicial fuese positiva para anticuerpos irregulares) se utilizó un panel de once células, marca (Diamed Caribbean<sup>®</sup>) para la tipificación de los anticuerpos detectados.



### **III. ANTECEDENTES**

#### **A. Clasificación de los sistemas eritrocitarios**

##### **1. Sistema ABO y Rh|**

###### **a. Sistema ABO**

El sistema ABO, que fue el primer sistema de antígenos eritrocitarios humanos descubierto, aún se encuentra como el más importante en las prácticas inmunohematológicas, esto debido a la frecuencia con que los anticuerpos anti-A y anti-B aparecen en pacientes que no poseen estos antígenos (1).

Las características inmunológicas del sistema ABO, se deben a la estructura molecular que sus antígenos poseen, esta estructura define el tipo del antígeno y también le confiere especificidad inmunológica, es decir que cada anticuerpo antieritrocitario será específico para un antígeno en particular. En el caso del sistema ABO estas estructuras moleculares son distintos azúcares, y la síntesis de cada uno de estos esta mediada genéticamente por un gen, que proviene de la combinación de dos pares de cromosomas, un par de cromosomas de la madre, y el otro par de cromosomas del padre del individuo (2).

La relación entre genes y antígenos pareciera ser directa, pero puede ser modificada o suprimida por un gen presente en otro cromosoma. Este fenómeno propicia la existencia de subgrupos dentro del grupo A que alteran el comportamiento y especificidad del grupo sanguíneo. En el Anexo I (Tabla 1), se observan los antígenos y anticuerpos del sistema ABO (3).

Los anticuerpos específicos para el sistema ABO generalmente son aglutininas del tipo IgM, inmunoglobulinas frías que en un amplio rango de temperatura fijan complemento. Si el antígeno A esta ausente las aglutininas anti-A están presentes en el suero y si el antígeno B está ausente entonces los anti-B son los anticuerpos que aparecerán

en el suero. Y en la ausencia de A y B, estarán presentes todos los tipos y sub tipos de anti-A y anti-B (4).

Características de los anticuerpos anti-A y anti-B

- Pueden ser de tipo IgM, IgG e IgA
- Se pueden dar mezclas de IgM con los otros dos tipos o los tres tipos a la vez
- Todos son hemolíticos, ya sea mediante la fijación de complemento o por fagocitosis
- Los títulos de anti-A tiende a ser más altos que los títulos de anti-B
- Los títulos de todos los anti-ABO siempre serán mayores en el grupo O (5).

Las características serológicas de los anticuerpos anti-eritrocitarios aparecen en el Anexo II (Tabla 2).

#### **b. Sistema Rh**

Sistema altamente importante dentro de los antígenos eritrocitarios, su positividad está determinada por la presencia del antígeno D que es una proteína fijada a la membrana por un lípido, ó su forma recesiva *d*, por lo tanto tres genotipos determinan el grupo Rh: DD, Dd y dd. La presencia del alelo *d* puede marcar una diferencia muy importante en la enfermedad hemolítica del recién nacido. Pues si el padre hereda al hijo el alelo *d* y la madre es Rh negativo, el niño no sufrirá una reacción hemolítica al entrar en contacto con los anticuerpos maternos ya que el antígeno *d* no es afectado por anticuerpos anti-D (6).

Además de los antígenos D y d, también hay otros antígenos C y E del sistema Rh que en conjunto son CDE, y sus respectivos alelos recesivos *cde* y las combinaciones son mucho más, por ejemplo: CCDDEE, CcDdEe, ccddee, CDE etc. Los anticuerpos específicos anti-c no pueden aglutinar eritrocitos con antígeno C y viceversa, por lo que no es difícil de imaginar que eritrocitos Rh positivos no aglutinen con un antisuero para el sistema Rh, o que las reacciones varíen de un tipo de anti-Rh a otro (7).

La combinación del sistema CDE está dada por un solo locus de un gen y no en una combinación de estos. La fenotipificación del sistema Rh es un poco complicada ya que para los heterocigotos Dd, Cc, Ee tendrían que usarse anti-sueros mixtos y determinar si todos los anticuerpos pudieron aglutinar (8).

El antígeno D también tiene una variante que es D<sup>u</sup>, cuya estructura molecular muestra defectos con respecto a la estructura molecular de D. Hay muchas variantes D<sup>u</sup>, que se pueden identificar por métodos de anti-inmunoglobulina indirecta o por métodos enzimáticos (9).

Características de los Anticuerpos anti-Rh

- ➔ Los anti-D en su mayoría son de tipo IgG
- ➔ Anti-C en su mayoría es una combinación de anti-Ce
- ➔ La variante D<sup>u</sup> puede ser afectado por un anti-D aunque la reacción puede ser diferente en función y severidad
- ➔ Los anticuerpos para antígenos recesivos no pueden aglutinar a sus correspondientes alelos dominantes (10).

En el Anexo II (Tabla 2), se resume el comportamiento serológico de los anticuerpos anti-eritrocitarios.

## **2. Otros sistemas eritrocitarios**

### **a. Sistema Kell**

El antígeno Kell está presente en aproximadamente el 8 por ciento de las personas de raza blanca, es uno de los antígenos más inmunizantes. Con frecuencia provoca la formación de anticuerpos en los sujetos politransfundidos (11).

El sistema Kell es relativamente complejo. Comprende una serie de haplotipos, el más común de los cuales produce antígenos Cellano, Kp<sup>b</sup>, Js<sup>b</sup>, pero que tiene variaciones, ya que los haplotipos mutantes pueden producir el haplotipo Kell, que con mayor frecuencia aparece en personas de raza blanca que de raza negra, el antígeno Kp<sup>a</sup>, en los

blancos y el antígeno Js<sup>a</sup> en los negros. En realidad, también en este caso se piensa en una actividad sinérgica entre un sistema base, Kx, que podría producirse por un gen ligado al X, y el complejo genético Kell mismo (12).

A partir del año 1946 el sistema Kell fue relacionado con la disminución en la vida de eritrocitos fetales, debido a que este antígeno provoca la producción de anticuerpos IgG. En términos bioquímicos se puede decir que existen de 4,000 a 18,000 antígenos pertenecientes al sistema Kell en cada eritrocito, que a excepción del antígeno K24 todos se encuentran en una glicoproteína integrada a la membrana. El antígeno más inmunogénico del sistema Kell es el K:1 que después del antígeno D es el que tiene mayor capacidad de ocasionar una sensibilidad iniciadora de reacciones post-transfusionales (13).

Características de los anticuerpos Kell:

- Son inmunoglobulinas de clase IgG
- Se producen como respuesta a la presencia de antígenos ya sea por transfusión o por embarazo
- Estos anticuerpos no se unen al complemento
- Están asociados con reacciones transfusionales y enfermedad hemolítica del recién nacido (14).

En el Anexo II (Tabla 2), se resume el comportamiento serológico de los anticuerpos anti-eritrocitarios.

#### **b. Sistema Duffy**

Este sistema tiene dos antígenos importantes; el Fy<sup>a</sup> y el Fy<sup>b</sup> que son el producto de dos alelos, Fy<sup>a</sup> y el Fy<sup>b</sup> respectivamente, el antígeno Fy<sup>a</sup> se encuentra presente en el 65 por ciento de personas de raza blanca y es el más inmunógeno y frecuente, en las personas de raza negra puede haber ausencia de los dos antígenos y de esto se da el fenómeno Fy(a-b-), fenómeno que proporciona resistencia cuando el merozoito del *plasmodium sp* se trata de unir a la membrana del eritrocito en el desarrollo de la malaria (15).

El Anticuerpo  $Fy^a$  está relacionado con accidentes de aloinmunización fetomaterna y reacciones hemolíticas, generalmente se descubre mediante la prueba de Coombs indirecta y empleando anti-IgG (16).

Este sistema fue descubierto en el año 1950 cuando se encontró en el suero de un paciente hemofílico politransfundido, el señor Duffy, un anticuerpo desconocido al que se le llamó  $Fy^a$ , posteriormente se descubrieron otros antígenos del mismo sistema que son;  $Fy^b$ ,  $Fy3$ ,  $Fy4$ ,  $Fy5$  y  $Fy6$ . Todos los antígenos del sistema Duffy en las personas que lo poseen están bien desarrollados a la hora del nacimiento (17).

Bioquímicamente el sistema Duffy se encuentra en una glicoproteína de la membrana eritrocitaria pero se expande también a la doble capa lipídica, es susceptible a la actividad proteolítica de las enzimas papaina (18).

#### Características de los anticuerpos anti- Duffy

- ➔ Son estimulados por la exposición antigénica debido a una transfusión o embarazo
- ➔ Son inmunoglobulinas clase IgG
- ➔ Generalmente no se unen al complemento
- ➔ Son causa de reacciones post-transfusionales pero raramente de la enfermedad hemolítica del recién nacido (19).

En el Anexo II (Tabla 2), se resume el comportamiento serológico de los anticuerpos anti-eritrocitarios.

#### c. Sistema Kidd

Sistema de dos alelos  $Jk^a$  y  $Jk^b$ , donde el antígeno  $Jk^a$  es el más inmunógeno que se encuentra relacionado con reacciones hemolíticas post-transfusionales y de enfermedad hemolítica del recién nacido aunque el  $Jk^b$  también puede ocasionar estas reacciones. Algunos sujetos raros carecen de ambos antígenos y producen anticuerpos de tipo anti -  $Jk^a$  –  $Jk^b$ , estos anticuerpos son capaces de reconocer los leucocitos de los sujetos  $Jk^a$  (+) o  $Jk^b$

(+) pero no los leucocitos del sistema Jk (-a-b), mientras que ni el anti Jk(a) aislado o el anti Jk (b) aislado son capaces de reconocer leucocitos (20).

El sistema Kidd que fue descubierto en los inicios de la década de los 50's, es un sistema simple y que su característica principal es que está relacionado con hemólisis extravascular en reacciones hemolíticas post-transfusionales retardadas, donde la obtención de anticuerpos del este sistema Kidd es facilitada por el sistema reticuloendotelial. No son desnaturalizados por actividad proteolítica y no poseen alta inmunogenicidad como la de los sistemas Kell y Duffy (21).

#### Características de los Anticuerpos anti-Kidd

- Son inmunoglobulinas de tipo IgG
- Reacciones de aglutinación más fuertes con las expresiones homocigotas del antígeno [Jk(a-b+), Jk(a+b-)] que con las expresión heterocigota JK(a+b+).
- Estos anticuerpos fijan complemento
- Producidos post-transfusión sanguínea o embarazo
- Usualmente aparecen en sueros con anticuerpos múltiples debido a varias transfusiones previas
- Su detección se hace mediante el uso de reagentes enzimáticos y polietilenglicol (22).

En el Anexo II (Tabla 2), se resume el comportamiento serológico de los anticuerpos anti-eritrocitarios.

#### **d. Sistema Lewis**

Este sistema se origina a partir de tres genes para la síntesis de los antígenos: Hh, Se y Le los cuales producen glicoproteínas, amorfas indetectables, para que estas puedan ser detectables tiene que darse la combinación de Se y Le ó Hh y Le, porque el Le por si solo y que es el que tiene las características inmunológicas propias del sistema Lewis no podrá sensibilizar al sistema inmune. Así mismo el antígeno Le se divide en los antígenos Le<sup>a</sup> y Le<sup>b</sup>, al igual que en el sistema Duffy, solo individuos Le a-b- pueden producir anti Le<sup>a</sup> y/o

Le<sup>b</sup>, pero los individuos Le(a+b-) no pueden generar anticuerpos anti Le<sup>b</sup> y los Le(a-b+) no pueden producir anticuerpos anti Le<sup>a</sup> (23).

Características de los anticuerpos anti Lewis:

- temperatura de aglutinación *in vitro* es de 37°c
- aglutinación *in vitro* es siempre frágil y fácil de disiparse
- anti- Le<sup>a</sup> puede fijar complemento (24).

En el Anexo II (Tabla 2), se resume el comportamiento serológico de los anticuerpos anti-eritrocitarios.

#### e. Sistema MNS

El sistema MNS consta de los tres antígenos importantes el M, N y S. El M y N se combinan con el S ó s, aunque del antígeno S, pueden haber hasta 30 expresiones antigénicas diferentes, lo que hace que la detección de este sistema sea complicada. Otra razón por la que resulta difícil identificar estos antígenos es porque su determinación se realiza de manera indirecta, de acuerdo con el resultado obtenido y con el reactivo utilizado en la prueba (25).

Los anticuerpos anti-M por lo general son del tipo IgM, pero se puede encontrar un porcentaje de IgG que también pueden ocasionar reacciones de aglutinación en reacciones hemolíticas de los eritrocitos, no fijan complemento, en casos aislados puede provocar la enfermedad hemolítica del recién nacido e inclusive provocar hidrocefalia pesial (26).

Los anticuerpos anti-N son de la clase IgM, aunque una pequeña proporción aparece como IgG, estos anticuerpos no crean reacciones de aglutinación significativas *in vivo* pero *in vitro* si pueden ser de importancia (27).

Uno de las variaciones más significativas del anticuerpo anti-S es el anti-U, que es muy inmunógeno y que puede desencadenar reacciones hemolíticas post-transfusionales

severas, en contraste con las variaciones S y s que raramente participan de reacciones de aglutinación y hemólisis agudas o tardías pero con poca severidad (28).

La bioquímica del sistema MNS también es muy compleja ya que dependiendo de las combinaciones de los antígenos M, N con el antígeno S y sus variaciones, así será su estructura tamaño y forma, para darle una especificidad determinada a la molécula que es un glucosacárido en la membrana del eritrocito (29)

#### Características de los anticuerpos anti-MNS(s)

- ➔ Pueden ser IgM ó IgG
- ➔ No fijan complemento
- ➔ El anti-M puede detectarse en el suero sin antecedente de transfusión
- ➔ Las especificidades de los anticuerpos anti-M y anti-N se asocian con la presencia de ácido siálico (30).

En el Anexo II (Tabla 2), se resume el comportamiento serológico de los anticuerpos anti-eritrocitarios.

#### **f. Sistema P (AyC)**

El sistema P es de baja inmunogenicidad y relativamente complejo. Comprende dos fenotipos principales, el P<sub>1</sub> y P<sub>2</sub>. El P<sub>1</sub> contiene las especificidades P<sub>1</sub> y P mientras que el P<sub>2</sub> solo tiene la especificidad P<sub>1</sub>. Además existen otros fenotipos muy raros que parecen ser sustratos no convertidos como lo son P<sup>k</sup> y el Tj(a-), el suero de los sujetos que presentan estos fenotipos tienen la particularidad de tener sus anticuerpos naturales, es decir que están presentes sin necesidad de transfusiones previas. Por ejemplo los individuos Tj(a-) tiene anticuerpos naturales anti-P<sub>1</sub>+P+P<sup>k</sup>, es decir reconoce los antígenos de los demás sujetos a excepción del Tj(a-), mientras que los sujetos P<sup>k</sup> poseen anticuerpos anti-P que reconocen todos los demás antígenos menos los P<sup>k</sup> mismos y los Tj(a-) (31).

El sistema P está compuesto por antígenos cuya base molecular es un glucolípido ó glucoesfinglolípido al igual que los del sistema ABH donde las α-glucosil transferasas se



unen específicamente a los sitios P<sup>k</sup> y luego, mientras en el sistema ABH la enzima que se encarga de esta función es  $\alpha$ -galactosa transferasa (32).

#### Características de los anticuerpos del sistema P

- ➔ Los anticuerpos naturales pueden acortar la vida de los eritrocitos que pueden ser transfundidos al paciente que los posee especialmente en procesos quirúrgicos que incluyen la hipotermia artificial como la cirugía cardiovascular
- ➔ El anti P<sub>1</sub> se presenta en la mayoría de los sujetos P<sub>2</sub>
- ➔ El anti-P<sub>1</sub> puede fijar complemento y puede ser una aglutinina fría o a 37°C y provocar una reacción hemolítica tardía
- ➔ Raramente los anticuerpos del sistema P aparezcan en enfermedad hemolítica del recién nacido
- ➔ Clases raras de estos anticuerpos se observan en mujeres con aborto habitual
- ➔ El antígeno P<sub>1</sub> se encuentra en eritrocitos, plaquetas, linfocitos y fibroblastos (33).

En el Anexo II (Tabla 2), se resume el comportamiento serológico de los anticuerpos anti-eritrocitarios

#### **g. Sistema Lutheran**

Conformado por dos alelos el Lu<sup>a</sup> y el Lu<sup>b</sup> que codifican la síntesis de los fenotipos Lu(a+b-), Lu(a+b+) y Lu(a-b+), este último que se encuentra en mayor proporción, aproximadamente en un 94 % al menos en personas de raza blanca. También aquí existe un fenotipo raro o silencioso que es el Lu(a-b-) que puede ser dominante o recesivo (34).

Las glicoproteínas Lutheran se encuentran presentes en el endotelio, en la capa basal del epitelio y en células hematopoyéticas son exclusivas de la serie eritroide, y desde que se empezaron a estudiar estas moléculas se conoce que tienen función de adhesión en las células que las poseen. Estas glucoproteínas y la molécula de adhesión de la células B-Cam que son un marcador del cáncer de ovario son codificadas por el mismo gen, es decir son exactamente iguales (35).

A consecuencia de los dos antígenos eritrocitarios del sistema Lutheran presentes en la membrana son producidos los anticuerpos anti Lua y anti Lub. El primero puede reaccionar a temperaturas menores de 37°C debido a que la mayoría de estos pueden ser aglutininas tipo IgM aunque también pueden presentar una mezcla de IgA e IgG, es poco probable que este anticuerpo provoque una reacción hemolítica. Las probabilidades que el anti Lub pueda desencadenar una reacción hemolítica son muy escasas como escasa es la presencia del antígeno Lu(a+b-) que es el que al sensibilizarse ocasiona la producción de anti Lub, pero si llegan a haber pueden ocasionar reacciones hemolíticas tardías debido a que son una mezcla de IgA e IgM (36).

Características de los anticuerpos del sistema Lutheran:

- ➔ Son mezclas de aglutininas IgG, IgM e IgG
- ➔ Escasamente ocasionan enfermedad hemolítica del recién nacido
- ➔ Los anticuerpos anti-Lua son los que se encuentran en mayor proporción mientras que los anti-Lub son casi inexistentes
- ➔ Pueden reaccionar débilmente a 37°C o a menos de esta temperatura, (37).

En el Anexo II (Tabla 2), se resume el comportamiento serológico de los anticuerpos anti-eritrocitarios.

## **B. Reacciones post transfusionales**

Las reacciones post-transfusionales pueden variar según su tipo en cuanto al riesgo que corre el paciente cuando se enfrenta a alguna de estas, que pueden ser: desde una urticaria leve; que generalmente no requiere tratamiento, pasando por reacciones alérgicas y anafiláticas; en las que es necesario la aplicación de antihistamínicos para controlar los efectos ocasionados, ó hemólisis intravascular; que causa hemoglobinuria, coagulación intravascular diseminada e hipotensión entre otros síntomas sino se controlan pueden ocasionar daño renal que puede ser fatal. Y sin dejar de mencionar las infecciones transmitidas directamente en las transfusiones como las del VIH, HTLV-I y II, hepatitis, sífilis, chagas y malaria (38).

En cuanto al tiempo que transcurre desde que el paciente empieza a recibir una transfusión hasta cuando este empieza a presentar signos y síntomas que indiquen que esta pasando por un proceso de reacción debido a la transfusión, las reacciones post-transfusionales se dividen en agudas o inmediatas y en retardadas (39).

### **1. Reacciones post transfusionales inmediatas ó agudas**

Son reacciones que ocurren en el transcurso de horas a partir de la transfusión o incluso en el instante mismo de la transfusión para que se empiecen a manifestar. Estas a su vez se clasifican según su severidad como sigue:

#### **a. Reacciones leves**

i. Hipersensibilidad leve: este tipo de reacciones son de tipo alérgico leve donde los síntomas son ronchas localizadas o generalizadas y urticaria. Son bien controladas mediante la administración de antihistamínicos o epinefrina (40).

#### **b. Reacciones moderadamente severas**

i. Hipersensibilidad moderadamente severa: Estas reacciones presentan además de los síntomas de las hipersensibilidades leves, asma y edema angioneurótico y por lo general son provocadas por alérgenos presentes en el plasma del donador a los cuales los eritrocitos del receptor son sensibles. No son recomendables los donadores con antecedentes de asma, enfermedad del heno u otras afecciones de carácter alérgico.

ii. Reacciones febriles no hemolíticas: estas se pueden deber a la presencia de pirógenos que generalmente son carbohidratos de bacterias presentes en el plasma del donante o por contaminación bacteriana, los síntomas son fiebres, escalofríos y sudoraciones.

iii. Contaminación bacteriana: comúnmente se da por falta de asepsia en cualquiera de los instrumentos utilizados tanto en la donación como en la transfusión, por lo que se debe tener mucho cuidado en la manipulación de la bolsas y en la forma en que son almacenadas.

iv. Pirógenos: Son restos de bacterias especialmente carbohidratos que pueden iniciar una reacción febril y dependiendo de la carga así será la severidad del estado febril (41).

**c. Complicaciones que ponen en riesgo la vida**

i. Contaminación bacteriana y shock séptico: por lo general está relacionado con bacterias gram negativas no patógenas presentes en sangre de donadores que sufren infecciones bacterianas. Debe de tenerse cuidado con las transfusiones de sangre infectada con bacterias porque la carga suele ser suficiente para desencadenar reacciones pirógenas severas (42).

ii. Hemólisis intravascular diseminada: se da en una incompatibilidad entre los antígenos del eritrocito y anticuerpos específicos para dichos antígenos. El anticuerpo tiene la capacidad de activar cada uno de los factores del complemento (de C1 a C9), que da como resultado la lisis total del eritrocito. Los anticuerpos que fijan complemento pueden ser tanto fríos como calientes (IgM ó IgG). Este tipo de hemólisis produce presencia de hemoglobina libre en sangre y posteriormente hemoglobinuria debido a que la filtración glomerular se afecta. Finalmente se produce una coagulación intravascular diseminada que puede culminar en daño renal y pulmonar. Únicamente 10 mL de sangre incompatible son necesarios para provocar una hemólisis intravascular severa (43).

Signos y síntomas: fiebre, escalofríos, náuseas, hipotensión, vómito, taquicardia, disnea, ansiedad, sensación de muerte y dolor retrosternal.

Etiología: incompatibilidad por anticuerpos de tipo IgG ó IgM contra los antígenos de los sistemas ABO, Kidd, Duffy, y P, principalmente, y la reacción inmunológica es mediada por fijadores de complemento (44).

iii. Reacciones anafiláticas: se producen cuando el plasma del donador contiene alérgenos que afectan los glóbulos rojos del paciente y desencadenan una serie de reacciones debido a la presencia de estos alérgenos (45).

iv. Injuria pulmonar: cuando se da una reacción hemolítica intravascular severa, a partir de la coagulación intravascular diseminada, el oxígeno empieza a disminuir en los tejidos del organismo, por lo cuál los pulmones están más ávidos de oxígeno y si no se aplica oxígeno en grandes cantidades al pacientes, los pulmones corren el riesgo de sufrir daños irreversibles (46).

## **2. Reacciones post transfusionales retardadas**

El tiempo que debe pasar para que una reacción post-transfusional se considere retardada oscila entre una y dos semanas hasta meses ó años (47).

### **a. Infecciones que se transmiten por transfusión sanguínea**

Las principales infecciones que se transmiten por medio de transfusiones sanguíneas y que para su detección ya existen procedimientos de rutina estandarizados son; HIV, hepatitis B y C, HTLV I y II, malaria y chagas (48).

### **b. Hemólisis extravascular**

También conocida como intratisular, en más del 90 % de los casos la destrucción de los glóbulos rojos se debe a la fagocitosis por parte de los macrófagos, se caracteriza por la presencia de ictericia debido a niveles altos de bilirrubina indirecta libre en la circulación. Debido a la hemólisis la bilirrubina indirecta viaja unida a la albúmina en el torrente sanguíneo pero al sobrepasar la proporción de albúmina, esta queda libre en la circulación (49).

La fagocitosis se puede llevar a cabo por dos aspectos: por adherencia opsonica (IgG) y la adherencia inmune (complemento), ocasionando ya sea una lisis total del eritrocito o modificaciones morfológicas que conllevan a la disminución de la sobrevivencia de la célula (50).

Adherencia Opsonica: Esta vía depende de inmunoglobulinas IgG1 e IgG3 que no tienen capacidad de fijar complemento, debido a que un fenómeno antigénico del eritrocito

que no permite que dos moléculas con la misma especificidad puedan fijarlo. Al no poder fijar complemento las inmunoglobulinas IgG1 e IgG3 y con menos capacidad la IgG2 e IgG4 permiten que la membrana de los macrófagos ó monocitos se unan a sus fragmentos Fc donde posteriormente se ejecuta la fagocitosis total o parcial del eritrocito. Cuando la fagocitosis es parcial se observa una pérdida de lípidos de la membrana celular donde se modifica la relación de volumen superficial induciendo a la formación del esferocito, estos que tienen una vida menor se depositan en el bazo debido a su rigidez. La fagocitosis total se lleva a cabo en la pulpa roja del bazo donde la sangre está más concentrada y la circulación es más lenta y por ello es que no hay hemoglobinuria (51).

Inmunoaderencia: Mediada por aglutininas frías en donde interviene un mecanismo de adherencia entre los macrófagos y el factor C3 del complemento, los eritrocitos cubiertos por C3 se encuentran retenidos en el hígado (secuestro tisular) y una pequeña proporción fagocitados, la mayoría de los eritrocitos que se encuentran en el hígado vuelven a la circulación, pero debido a la parcial adherencia a los macrófagos se explica la posibilidad de macrocitosis, característica en algunas anemias hemolíticas con complemento (52).

Los anticuerpos Anti-Duffy y Anti-Kell son los que con mayor frecuencia se encuentran en hemólisis extravasculares (53).

Signos y síntomas: fiebre, ictericia, transfusión inefectiva, escalofríos y coluria.

Etiología: la hemólisis extravascular se da debido a incompatibilidad por los sistemas Kidd, Diego, Duffy, Rh, MNS, Lewis, Lutheran y Xg principalmente, y es mediada por fagocitosis (54).

### **c. Púrpura transfusional**

Caracterizada por trombocitopenia y tendencia al sangramiento (55).

#### **d. Sobrecarga de hierro**

Es un trastorno grave, potencialmente mortal, que se caracteriza por el depósito excesivo de este metal en los tejidos (hemosiderosis). Cuando la sobrecarga es grave produce falla cardíaca, hepática y del sistema endocrino. Esta descompensación se da especialmente en personas que reciben transfusiones sanguíneas, en personas predispuestas genéticamente, y también ocurre como resultado del desarrollo de ciertas anemias o por problemas en el hígado. Se recomienda ser tratada con agentes que fijan hierro, como la desferoxamina (56).

### **C. Enfermedad hemolítica del recién nacido**

Es una afección inmunológica aloinmune contra antígenos de origen paterno, presente en los eritrocitos del feto y del recién nacido, la mayoría de este tipo de afecciones son originadas por la presencia de anticuerpos anti-Rh que presentan mayor severidad que con otros anticuerpos, el anticuerpo de tipo anti-D es el que más comúnmente se ha encontrado en la enfermedad hemolítica del recién nacido, aunque puede encontrarse en conjunto con anti-C's y/o anti-E's aunque estos en títulos menores.

El diagnóstico de esta enfermedad puede realizarse en forma precoz y gracias a esto se pueden programar transfusiones intrauterinas para eliminar la bilirrubinemia y evitar complicaciones mayores. Aunque el sistema Rh es el más afectado en la enfermedad hemolítica del recién nacido también hay otros anticuerpos como los anti-Kell, anti-Kidd y anti-Duffy entre otros, que pueden tener ocasionar trastornos significativos (57).

#### **1. Mecanismo de sensibilización**

El mecanismo de sensibilización ocurre cuando la madres que son negativas para algún antígeno eritrocitario en un embarazo previo donde no se observan complicaciones ni para la madres ni para el feto ó bebé, debido a que la sensibilización ocurre a la hora del parto cuando hay rompimiento de membranas y la sangre de la madre entra en contacto con el liquido amniótico quedando así sensibilizada contra el o los antígenos presentes en la

membrana del eritrocito. Pero en los embarazos posteriores donde los eritrocitos del feto tienen el mismo antígeno que dio origen a la sensibilización, los anticuerpos en el plasma empiezan a atacar al feto generando estados de anemia hemolítica, ictericia, trastornos en el hígado y riñones conocidos como hidrops fetalis, y saturación de bilirrubina indirecta (altamente liposoluble) en células cerebrales que se denominan Kernicterus (58).

## **2. Etiopatología**

La etiopatología ocurre de la siguiente manera: En el primer embarazo la madre se sensibiliza y como respuesta del estímulo el sistema inmune materno produce una inmunoglobulina de tipo IgM entre la cuarta y octava semana después del primer estímulo, este anticuerpo no puede atravesar la placenta debido a su tamaño y aunque hubiera sensibilización por alguna razón antes del parto el feto no sería afectado (59).

En el segundo embarazo son necesarios 0.03 mL de sangre con el antígeno específico para que se desencadene una respuesta secundaria, los anticuerpos que se producen son de tipo IgG que atraviesan la placenta y atacan las membranas celulares de los eritrocitos, continuando con la hemólisis que puede ser intravascular ó extravascular, según el tipo de anticuerpo que la ocasione. En caso de anticuerpos del sistema Rh, Duffy y Kell la hemólisis es extravascular. La severidad de la hemólisis depende del título de anticuerpos presentes (60).

La manera en que los anticuerpos IgG atraviesan la placenta está facilitada por dos aspectos: el primero es el tamaño y estructura de la molécula que le permiten atravesar la placenta con cierta facilidad que no tendría un anticuerpo IgM, el segundo aspecto son los receptores para la fracción Fc del anticuerpo que tiene el trofoblasto lo que permite el paso de los anticuerpos IgG a través de esta membrana hasta llegar al lado del feto donde se produce la exocitosis a la circulación fetal (61).



### 3. Manifestaciones clínicas

**a. Anemia:** debido a la destrucción de los eritrocitos, aunque en la hemólisis extravascular que se da en la pulpa roja del bazo, el hematocrito puede permanecer normal (62).

**b. Obstrucción portal:** el hígado además del bazo, riñones y glándulas suprarrenales frente a la anemia asumen la función de eritropoyesis, dicha función interfiere con el funcionamiento normal del hepatocito (63).

**c. Edema generalizado, ascitis, derrame pericárdico y pleural:** como causa del la obstrucción hepática, a estos síntomas en conjunto se les denomina *Hidrops Fetalis*, que culmina con la muerte (64).

**d. Ictericia:** debido a la poca capacidad del hígado fetal de excretar la bilirrubina libre en la sangre debido a la hemólisis (65).

**e. Alteraciones mitocondriales neuronales:** debido a la deposición de bilirrubina indirecta en las mitocondrias de las neuronas (66).

**f. Kernicterus:** muerte cerebral, precedida de letargo, disfunción cerebral, convulsiones y arritmia respiratoria (67).

## D. Principios de aglutinación eritrocitaria y tipificación de anticuerpos irregulares

### 1. Principios de aglutinación eritrocitaria

Cuando existe una incompatibilidad eritrocitaria como causa de un procedimiento transfusional, o por la enfermedad hemolítica del recién nacido, la producción de haloanticuerpos específicos para uno o varios antígenos eritrocitarios y la consecuente aglutinación de los eritrocitos, son solo los primeros pasos en una serie de reacciones inmunes que pueden terminar con resultados fatales. Sin embargo La aglutinación eritrocitaria también es la base de los procedimientos utilizados en banco de sangre para detectar la presencia de anticuerpos específicos contra las células rojas. Aunque parecer ser

que la aglutinación es una reacción inmune muy sencilla, *in Vitro* la aglutinación depende de varios factores para llevarse a cabo, las cuales se enumeran a continuación: (68).

**a. Factores que afectan la aglutinación eritrocitaria *in vitro***

i. Factores relacionados con el antígeno: incluyen el número de sitios antigénicos, las interacciones génicas, el sitio que ocupa el antígeno sobre la superficie eritrocitaria, la edad de las células y las condiciones de almacenaje.

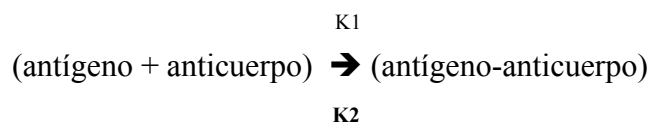
ii. Factores relacionados con los anticuerpos: se pueden mencionar la capacidad de fijar complemento, la influencia del suero o plasma, el fenómeno de rouleaux y la contaminación bacteriana.

iii. Condiciones de reacción: como el pH, las concentraciones de los antígenos y los anticuerpos, la temperatura, el tiempo de incubación, la velocidad de centrifugación, la fuerza iónica, y el medio de la reacción, que puede ser un gel, un medio salino, albuminoideo, uno enzimático ó un reactivo aglutinolítico (69).

**b. Reacciones de aglutinación bajo condiciones de laboratorio**

Los anticuerpos aglutinan a los eritrocitos en dos etapas: en la primera etapa el anticuerpo se une físicamente al antígeno en los eritrocitos (sensibilización), en la segunda los eritrocitos sensibilizados se aglutinan formando puentes entre ellos para crear una estructura de enrejado. En algunas ocasiones estas dos etapas transcurren casi simultáneamente mientras que en otras solo ocurre la etapa de sensibilización por anticuerpos no aglutinantes (70).

i. Primera etapa de la aglutinación eritrocitaria: es la formación del complejo antígeno-anticuerpo. La sensibilización eritrocitaria inicialmente se basa en la ley de asociación y disociación antígeno-anticuerpo, la ley de masas, que es una reacción reversible y se representa por la ecuación B-I: (71).



Donde la formación del complejo antígeno-anticuerpo está dada por las constantes;  $k_1$  es la constante de asociación y  $k_2$  es la constante de disociación, de acuerdo con la ley de acción de masas (72).

$k$  representa la afinidad de reacción y refleja la fuerza de unión antígeno-anticuerpo, mientras mayor sea  $k$  mayor será la velocidad de la reacción de aglutinación, esta constante depende de las concentraciones de antígenos y anticuerpos, pH, temperatura, fuerza iónica y tiempo de incubación (73).

El pH óptimo para llevar a cabo una reacción de aglutinación es de 7.05, la temperatura para anticuerpos fríos (IgM) debe ser entre 4° y 24° centígrados y para anticuerpos calientes (IgG) debe ser de 37° centígrados. La concentración salina del medio es inversamente proporcional a la velocidad de captación del anticuerpo y el tiempo de incubación depende del tipo de inmunoglobulina y la forma en que se une con el antígeno específico (74).

ii. Segunda etapa de la reacción de aglutinación eritrocitaria *in vitro*: cuando ya hay varios eritrocitos sensibilizados con varios anticuerpos unidos a ellos se da la segunda reacción que es la aglutinación en sí que depende de los factores mencionados en la sección D.1.a. (75).

Los anticuerpos IgM pueden establecer puentes entre los eritrocitos y aglutinarlos incluso suspendidos en solución salina, esta capacidad se debe al tamaño y estructura circular de la molécula y a los diez sitios que posee para entrar en combinación con el antígeno, mientras que los anticuerpos IgG poseen solo dos sitios de combinación y están más unidos uno del otro que los sitios de combinación de los IgM, lo que disminuye su alcance (76).

Cuando los anticuerpos IgG no tienen la capacidad de aglutinar en un medio de solución salina es necesario disipar las cargas negativas de los eritrocitos, así la distancia

entre estos disminuye y la reacción de aglutinación ocurre. El tratamiento con albúmina bovina es una opción para disipar las cargas negativas en las células rojas, ya que la constante dieléctrica del medio aumenta, también se pueden utilizar otras enzimas como la bromelina, la tripsina, la papaina y la ficina que reducen la carga negativa mediante la hidrólisis de glicoproteínas de la superficie celular (77).

La dosis del antígeno influye en la capacidad de los anticuerpos de aglutinar las células, a mayor cantidad de antígenos es más fácil la aglutinación, también el genotipo del antígeno está involucrado en la cantidad de antígenos presentes, por ejemplo un genotipo MM produce más antígenos M<sup>+</sup> que un genotipo MN. El tratamiento con sustancias de carga positiva también estimula la aglutinación al neutralizar la carga negativa de los eritrocitos, un ejemplo es el Polibreno (78).

## **2. Técnicas de identificación de anticuerpos irregulares**

Existen dos técnicas que son las más conocidas y efectivas para la identificación de anticuerpos irregulares; la técnica de aglutinación en gel y la técnica de LISS (por sus siglas en inglés Low ionic strength solution, solución de baja fuerza iónica). Estos métodos consumen menos tiempo, dinero y esfuerzo que los métodos enzimáticos, sin perder el alto grado de sensibilidad y especificidad (79).

### **a. Técnicas de LISS y del Polibreno**

La técnica de LISS solo debe realizarse a 37° grados celsius, porque a temperatura ambiente se pueden detectar anticuerpos que no tienen repercusión clínica, de forma contraria, el método del Polibreno se realiza a temperatura ambiente y tiene como ventaja detectar predominantemente anticuerpos que son activos a 37° grados celsius por otros métodos, en esta técnica el tiempo de incubación debe ser el mínimo para no detectar anticuerpos fríos sin significación clínica (80).

### **b. Técnica de aglutinación en gel**

Esta técnica se basa en la reacción aglutinación mediante la reacción antígeno-anticuerpo que ocurre en un gel que puede ser neutro, o contener anti-inmunoglobulina ó reactivos hemoclasificadores, el gel está contenido en microtubos o pozos en una tarjeta plástica. El plasma a tipificar y las células con antígenos sintéticos se dispensan en el gel y se centrifugan, posteriormente se observan los patrones de aglutinación a lo largo del gel o si la reacción es negativa solo se formará un botón de células al fondo del pozo.

Las células que se utilizan ya sea para rastrear anticuerpos o para tipificarlos contienen la mayoría de los antígenos para cuales los anticuerpos específicos se presentan comúnmente en reacciones post-transfusionales de importancia clínica.

Los pasos de rastreo y tipificación son 3:

i. Rastreo de anticuerpos, donde únicamente se determina la ausencia o presencia de anticuerpos irregulares, sin saber el tipo. Las células I, II y III contienen antígenos para todos los anticuerpos irregulares.

ii. Tipificación de anticuerpos irregulares. En caso de dar positivo el rastreo de anticuerpos se realiza la tipificación del anticuerpo(s) presente(s) mediante un panel de 11 células donde cada una de estas células contiene antígenos específicos para diferentes anticuerpos. La positividad o negatividad de la reacción en una sola célula no puede identificar ni descartar ningún anticuerpo.

iii. identificación del anticuerpo. Cada anticuerpo presenta un patrón único de positividad ó negatividad para cada una de las 11 células del panel. Por ejemplo el antígeno K del sistema Kell aglutina células de los tipos 2 y 6 pero no lo hace para el resto de células del panel, patrón que es único para este antígeno (81).

La técnica de reproducción en gel es fácil, sensible y reproducible, entre sus ventajas es que se pueden utilizar eritrocitos no lavados para el rastreo inicial, se requieren pocas cantidades de reactivos, después que la reacción ocurre en el gel esta puede mantenerse sin cambios hasta 24 horas después (82).

### **3. Rastreo de Anticuerpos, detección de anticuerpos pantallas**

La prueba de coombs indirecto que se utiliza para detectar anticuerpos no esperados tanto para donadores como para pacientes, en esta prueba es necesario utilizar células rojas comerciales tipo O con fenotipo o expresión antigénica conocida.

Cuando se realiza en pacientes comúnmente se utilizan 3 tipos de células individuales comerciales, y cuando se realiza en donadores se pueden utilizar células en pool.

El rastreo de anticuerpos puede no detectar anticuerpos con significancia clínica, pues se pueden pasar por alto anticuerpos reactivos de baja frecuencia o aquellos que presentan un efecto de dosis (83).

#### **E. Estudios en bancos de sangre**

Los estudios que se presentan a continuación se han realizado en bancos de sangre del extranjero, más específicamente en Latinoamérica, pues en los bancos de sangre de los hospitales más importantes de la ciudad de Guatemala no se encontró información documentada acerca de estudios realizados con anticuerpos irregulares. A continuación se presentan no solo estudios estadísticos, sino también estudios sobre alternativas en cuanto a procedimientos ó técnicas para facilitar el rastreo e identificación de este tipo de anticuerpos.

En la Fundación Homocentro Buenos Aires, ciudad de Buenos Aires, Argentina, se determinó la prevalencia global de anticuerpos irregulares antieritrocitarios, en pacientes con diversas patologías. Para llevar a cabo este estudio se utilizaron 208 muestras recibidas en la institución provenientes de 6 hospitales diferentes, durante un período de dos años (1/3/03 al 31/5/05), estas muestras presentaron pruebas positivas para anticuerpos irregulares con anterioridad en su lugar de referencia, al darles ingreso se les realizó tipificación ABO, genotipo Rh y panel de 3 viales por método convencional en tubo. Aquellas muestras en las cuales el resultado del 1<sup>o</sup> panel fue positivo, se realizó la identificación del anticuerpo correspondiente mediante el panel de 11 viales en tubo y/o

gel. De las 208 muestras estudiadas, 175 presentaron panel de 3 viales positivos. De estas, 8 resultaron crioaglutininas sin especificidad, 7 anticuerpos panaglutinantes sin especificidad, 14 autoanticuerpos, en 14 no pudo identificarse el anticuerpo y 132 presentaron anticuerpos irregulares específicos, 89 solos y 43 en combinaciones. Los resultados son los siguientes: anti-E 29.18%; anti-D 23.24 %; anti-K 15-67%; anti-c 11.35%; anti-C 5.4%; anti-Fy<sup>a</sup> 4.32%; anti-jk<sup>b</sup> 2.7%; anti-e y Kp<sup>a</sup> 1.62% cada uno; anti-Jk<sup>a</sup> y anti-P 1.08% cada uno; anti Fy<sup>b</sup>, anti-M, anti-N, anti-S, anti-Lea y anti-Leb 0.54% cada uno (84).

El banco de sangre del Instituto de Cardiología “Ignacio Chávez” de la ciudad de México es muy conocido en ese país por sus publicaciones relacionadas con sus estudios realizados. El objetivo del estudio fue rastrear anticuerpos irregulares en pacientes cardiopatas, que se asocian con enfermedad inmunológica primaria, en pacientes con tratamiento con metil Dopa, en pacientes con transfusiones previas y mujeres multiparas. De los 300 casos estudiados 30 fueron positivos, o sea el 10 % del total de los pacientes, correspondiendo 25 a mujeres y 5 a hombres, 15 mujeres tenían antecedentes transfusionales y todas tenían embarazos previos y un caso de un hombre asociado a metil dopa.

Los sistemas de anticuerpos antieritrocitarios irregulares encontrados en este estudio, en orden descendente son: Kell, Kidd, Lewis, MNS, P y Kell, por lo que se concluyó que estos anticuerpos son los que presentan mayor relación con cardiopatías (85).

La técnica en microplaca en fase sólida para agrupamiento ABO, Rh y anticuerpos irregulares, es una técnica que se implementó como procedimiento de rutina en el banco de sangre del centro Regional de Hemoterapia de la Ciudad de la Plata, Provincia de Buenos Aires, Argentina. Esta prueba consta de una microplaca que contiene anticuerpos monoclonales disecados marca Diamed Caribbean<sup>®</sup>.

En la implementación de la microplaca de fase sólida se estudiaron 63, 853 muestras de donadores que también se tipificaron con una técnica de tubo convencional con TAG

(técnica de antiglobulina) poliespecífico para la verificación de los resultados. En ningún paso del procedimiento se utilizaron equipos automatizados.

Todas las muestras fueron correctamente tipificadas coincidiendo con los resultados de TAG poliespecífico y con datos de donaciones anteriores, cuando existían. La distribución se dio así: Grupo O 46.4%; grupo A 21.9%, grupo B 8.3%; grupo AB 14.9%; grupo 5.8% grupo Rh negativo y 4.7% de anticuerpos irregulares.

La técnica de microplaca con anticuerpos monoclonales resultó simple, estandarizada desde el punto de vista operativo y se lograron ciertos beneficios como: objetividad, precisión de los resultados, reducción de carga de trabajo y de la cantidad de tiempo necesaria para llevar a cabo el examen favoreciendo la calificación inmunohematológica de un importante volumen de muestras con distribución de fuerza laboral (86).

El uso de anticuerpos monoclonales (AcMo) y recombinantes es uno de los presentes desafíos para la medicina transfusional, que busca principalmente, producir anticuerpos monoclonales sintéticos con el objeto de identificar antígenos eritrocitarios diferentes a los sistemas ABO y Rh, sin necesidad de esperar por una compatibilidad receptor-donador. Los anticuerpos monoclonales (AcMo) tienen muchas ventajas sobre los policlonales, que necesitan de la sensibilización de humanos para poder ser producidos, y que no son específicos para un antígeno eritrocitario en especial como los son los AcMo. A inicios se trató de aislar linfocitos B sensibilizados para un antígeno específico, con células de mieloma de ratón para darles un carácter de inmortalidad, ya que los linfocitos B no pueden cultivarse por mucho tiempo, y para que esto suceda se necesitan de condiciones especiales.

A pesar de las ventajas mencionadas se pueden mencionar algunos inconvenientes, como la dependencia de la clase de epitopes antigénicos, que según su tipo así será la



cantidad de AcMo producidos, y la avidéz de epitopes también representa otro inconveniente.

Las técnicas de producción de AcMo más importantes son; la síntesis de anticuerpos murinos, que son híbridos entre células B sensibilizadas y mieloma de ratón, también está la técnica de injerto de región determinante de complementariedad (RDC), que es una técnica de ADN recombinante donde se inserta un gen híbrido que va regular la síntesis de una molécula de complementariedad a un AcMo y bajo condiciones adecuadas esto va a provocar la producción de más anticuerpos monoclonales.

Por último esta el uso de Fagos que podrían absorber eritrocitos con anticuerpos unidos a ellos, que posteriormente se separan por elusión para obtener el ADN que se introducirá en células huésped que tengan la capacidad de reproducirlos posteriormente (87).

#### **IV. JUSTIFICACIONES**

La ausencia de datos que reflejen el comportamiento en cuanto a la presencia de anticuerpos irregulares en la población guatemalteca, da como resultado que no se tomen las medidas preventivas correspondientes al momento de una transfusión o un proceso quirúrgico donde dicha información sea útil. El contar con datos que indiquen en forma clara, el tipo y la frecuencia en la que los anticuerpos irregulares se presentan en la población, disminuirá los riesgos en los pacientes de reacciones postransfusionales, ocasionadas por la presencia de anticuerpos dirigidos contra antígenos eritrocitarios, que comúnmente no son rastreados en los bancos de sangre.

Aunque ciertos anticuerpos irregulares no tengan ninguna influencia en reacciones post transfusionales, la información que se obtenga en esta investigación puede ser utilizada de forma indirecta en la identificación de individuos que pertenezcan a grupos familiares, étnicos o con características genéticas similares.

Los resultados de esta investigación son un precedente de importancia, puesto que en los bancos de sangre de los hospitales nacionales, no existe información estadística relacionada con la frecuencia de anticuerpos irregulares en la población guatemalteca.

## **V. OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

- A.** Determinar la frecuencia de anticuerpos irregulares en pacientes que requieran ser transfundidos en el Hospital General San Juan de Dios.

### **Objetivos Específicos**

- A.** Determinar el porcentaje de cada uno de los anticuerpos irregulares encontrados en las muestras de los pacientes con rastreos positivos.
- B.** Determinar el porcentaje de hombres y mujeres que tengan anticuerpos irregulares.
- C.** Determinar el porcentaje de cada uno de los grupos sanguíneos en los pacientes que tengan anticuerpos irregulares.

## **VI. HIPÓTESIS**

Considerando que es un estudio descriptivo no se consideró necesario plantear una hipótesis.

## VII. MATERIALES Y MÉTODOS

### A. Universo

Pacientes internados en el Hospital General San Juan de Dios que necesiten una transfusión.

### B. Muestra (el número de la muestra se explica en el diseño experimental).

1,111 muestras de sangre

1. Criterios de inclusión: pacientes que hubieran recibido dos o más transfusiones previas, o mujeres sin transfusiones previas pero que hubieran tenido al menos dos embarazos. Los datos se recolectaron por medio de una ficha de información, (Anexo III).

### C. Recursos

#### 1. Recursos Humanos

- a. Investigador: Byron Alonzo Rosales
- b. Asesora: Licda. Claudia García
- c. Coasesor: Lic. Jorge Hernández
- d. Personal técnico del banco de sangre

#### 2. Recursos Institucionales

- a. Banco de sangre del Hospital General San Juan de Dios.

#### 3. Recursos Físicos

##### a. Equipo

- i. Centrifuga marca Sero-fuget
- ii. Baño María para tarjetas de Gel marca Diamed Caribbean®.
- iii. microcentrifuga marca Dianafuge®

##### b. Materiales

- i. Tubos de vidrio
- ii. Pipetas
- iii. Tips o puntas

- iv. Descartadores
- v. Gradillas
- c. Reactivos
  - i. Tarjetas gel de compatibilidad IgG marca Diamed Caribbean<sup>®</sup>, se pueden observar en el (Anexo IV).
  - ii 1 kit de células de rastreo tipo I, II y III marca Diamed Caribbean<sup>®</sup>.
  - iii. 1 kit de Panel de 11 células marca Diamed Caribbean<sup>®</sup>
  - iv. Diluyente tipo 2
  - v. Tarjetas DiaClon Rh subgrupos más Kell (C c E e K control).

#### **D. Recolección y procesamiento de las muestras.**

1. Las muestras se obtuvieron por punción venosa por el personal de enfermería que las transportó al banco de sangre. La recolección se realizó en el período comprendido entre julio y septiembre del año 2,007.
2. El rastreo de anticuerpos se realizó de inmediato por el personal técnico del banco de sangre y las muestras que sean positivas para dicho rastreo se almacenarán en un refrigerador a una temperatura entre 2° y 8° centígrados.
3. La tipificación de los anticuerpos se efectuó por el estudiante tesista con las muestras de plasma almacenadas en refrigeración (88).

#### **E. Metodología**

1. Recolección de Muestra
  - a. Se seleccionaron los pacientes que cumplieran con los requerimientos del estudio en cada uno de los servicios donde estos estuvieron internados.
  - b. Se obtuvieron las muestras de sangre (5cc.) por punción venosa .
  - c. Se trasladaron las muestras al banco de sangre donde fueron procesadas.

- d. Se identificaron las muestras de los pacientes con código correlativo, nombre y unidad de servicio en la que este se encontraba.
  - e. Se centrifugaron las muestras para separar el plasma (89).
2. Pruebas de rastreo e identificación de anticuerpos irregulares
- a. Rastreo de anticuerpos irregulares
    - i. Se identificó cada uno de los pocitos de las tarjetas de rastreo con el código del paciente y con el tipo de célula que se pipeteó en el pozo, por lo que fueron tres pozos para un paciente.
    - ii. Se pipetearon 25  $\mu$ L de cada célula (I, II ó III) en su respectivo pozo.
    - iii. Se pipetearon 50  $\mu$ L del plasma de cada paciente en cada uno de los tres pocitos correspondientes de la tarjeta de rastreo gel de compatibilidad a las células tipo I, II y III.
    - iv. Se incubaron las tarjetas en el baño María para tarjetas marca Diamed Caribbean<sup>®</sup> por 15 minutos.
    - v. Se centrifugaron las tarjetas en una centrifuga para tarjetas marca Diamed Caribbean<sup>®</sup>.
    - vi. Se observó si las células precipitaron totalmente en el gel, de ser así el rastreo fue negativo. Si hubo aglutinación identificada por grumos de células esparcidos a lo largo del gel, el rastreo fue positivo y de acuerdo con la cantidad de grumos presentes en el gel se reportó como: 1X si los grumos solo ocuparon la tercera parte inferior del gel, con 2X si los grumos ocuparon la tercera parte superior del gel y con 3X si los grumos ocuparon el gel en su totalidad (Anexo IV) (90).
  - b. Identificación de los anticuerpos irregulares





v. Se observaron las reacciones y se anotaron los resultados.

vi. Se interpretaron los resultados (92).

**3. Interpretación de resultados en las reacciones de aglutinación de las tarjetas de gel de compatibilidad.**

La interpretación de resultados de los procedimientos mencionados se hizo de la siguiente manera:

a. se trazó una línea imaginaria en el centro del gel y se observó el patrón de distribución de las células y se reportó como se indica en los pasos siguientes.

b. Reacciones de 4 cruces de intensidad: se formó una banda sólida de células rojas aglutinadas en la superficie del gel.

c. Reacciones de 3 cruces de intensidad: caracterizada por la aglutinación de células rojas en la mitad superior del gel.

d. Reacciones de 2 cruces de intensidad: se formó una banda sólida de células rojas aglutinadas a lo largo del gel.

e. Reacciones de 1 cruz de intensidad: se formó una banda sólida de células rojas aglutinadas en la mitad inferior del gel.

f. Reacciones negativas: se formó una acumulación de células rojas bien definida en el fondo del pozo. La presencia de fibrina, interferencias en el suero, o el congelamiento en algunos casos pudieron causar que células no aglutinadas quedaran atrapadas en la superficie formando un halo muy débil, pero fácil distinguir de una reacción positiva.

g. Células mixtas: se forman dos halos una en la superficie y otro cerca del fondo del gel (no ocurrió en este estudio).

Hemólisis: las partes del gel donde no hay aglutinación en lugar de ser transparentes se verán de color rosado (93).

**4. Identificación de los anticuerpos irregulares**

Después de que el rastreo dio positivo con las células I, II y III, la determinación del anticuerpo irregular presente, se hizo por medio del método denominado como “Ruling out” (o de exclusión por sus siglas en

inglés), donde utilizando la tabla de antígenos, que presenta el Anexo V (Tabla 3), se comparó cada resultado obtenido del suero en cuestión, con cada una de las 11 células del panel (94).

En la tabla de antígenos del Anexo V (Tabla 3), se presentan todos los Anticuerpos Irregulares y sus variantes más comunes con los resultados que se obtienen al ponerlos en presencia de cada una de las once células del panel.

El “Ruling out” consistió en ir excluyendo a todos aquellos anticuerpos que sus resultados fueron diferentes a los resultados del suero a determinar, esto se hizo en forma ordenada numéricamente, a partir de la célula No. 1 hasta la célula No. 11.

Suponiendo que el suero en cuestión dio negativo para la célula No.1, entonces se tacharon con un lápiz o lapicero los anticuerpos que tenían resultado positivo para esta célula, disminuyendo así el número de posibilidades para el anticuerpo que se buscaba, lo mismo se hizo con el resto de las 11 células, hasta que quedó sin tacharse el anticuerpo irregular presente en el suero. En la mayoría de casos no fue necesario llegar a la célula no. 11 para encontrar el anticuerpo que se buscaba (95).

Las tablas de antígenos, venían como insertos dentro del kit, y se utilizó una por cada muestra de suero a identificar, en ellas se escribieron los datos del paciente y los resultados del procedimiento, y además quedó identificado el anticuerpo irregular encontrado (96).

#### 4. Control de calidad

El control de calidad se realizó con sueros positivos para el rastreo de células tipo I, II y III y para el panel de tipificación de once células, con los cuales se verificó si la aglutinación era real o si por causa de una hemólisis (97).

## F. Diseño Experimental

### Estudio Descriptivo

1. Muestra: 1,111 muestras de plasma de personas mayores de edad que necesiten ser transfundidas, y que estén internadas en el hospital con rastreos positivos para anticuerpos irregulares.

El número de muestras se determinó partiendo del hecho que este estudio es de tipo descriptivo sin cohorte, donde el número mínimo de muestras para llevar a cabo un estudio de estas características es de 95. Debido a que la frecuencia de los anticuerpos irregulares era baja, se consideró que el número de muestras tenía que elevarse de manera que el número de casos positivos para anticuerpos irregulares, tuviera mayor representatividad en esta investigación (200 muestras positivas).

2. Variables de interés: Presencia de anticuerpos irregulares
3. Variables de inclusión: Pacientes que hayan recibido 2 o más transfusiones previas o mujeres sin transfusiones previas pero que hayan tenido por lo menos 2 embarazos
4. Análisis de resultados: Frecuencia de anticuerpos irregulares en los pacientes muestreados

Distribución porcentual de los anticuerpos irregulares sobre el total de pacientes con rastreos positivos

Distribución del porcentaje por género de los pacientes con rastreos positivos para anticuerpos irregulares

Distribución de porcentaje de los grupos sanguíneos presentes en los pacientes con anticuerpos irregulares

## VIII. RESULTADOS

La muestra que se incluyó en esta investigación fueron 1,111 pacientes mayores de edad que estaban internados en cualquiera de los servicios del Hospital General San Juan de Dios y que necesitaban ser transfundidos. Este estudio se llevó a cabo en los meses de julio, agosto y septiembre del año 2,007 y los criterios de inclusión fueron: haber tenido 2 o más transfusiones sanguíneas anteriormente o en el caso de mujeres que sin haber tenido transfusiones hubiesen tenido 2 o más embarazos previos a esta investigación y a la solicitud de transfusión.

El equipo e instalaciones necesarias para realizar el rastreo y la tipificación de los anticuerpos irregulares, así como los reactivos y el soporte profesional y técnico fueron proporcionados por el Hospital General San Juan de Dios.

Las muestras se procesaron al momento de ser recibidas en el banco de sangre por el personal técnico, mientras que la información personal y clínica de los pacientes se obtuvo de las órdenes que mandaba el personal médico y de la base de datos con la que cuenta el banco de sangre. Toda esta información se recolectó en una ficha de información (Anexo III).

Las muestras de plasma se obtuvieron de las muestras de sangre con anticoagulante que enviaban de los diferentes servicios donde realizarían las transfusiones. La separación del suero la realizó el personal técnico del banco de sangre, por ser parte de la rutina que se realiza en todas las muestras que se reciben diariamente.

Para efectuar este estudio, primero se realizó un procedimiento preliminar denominado rastreo de anticuerpos irregulares, que consistió en determinar la presencia de anticuerpos diferentes a los del sistema ABO en el plasma de los pacientes. El rastreo no identificó al anticuerpo como tal, sino que únicamente demostró su presencia en el plasma.

El rastreo se realizó mezclando en tarjetas gel, el plasma de cada paciente con tres tipos de eritrocitos, que contenían antígenos específicos para los anticuerpos irregulares más comunes y de mayor importancia. Luego de incubar y centrifugar, si se observó aglutinación de cualquiera de los 3 tipos de eritrocitos, se determinó que el resultado fue positivo para anticuerpos irregulares, y se procedió a realizar su identificación.

El procedimiento para identificar el anticuerpo irregular presente en el plasma se efectuó de la misma manera que en el rastreo, con la diferencia de que se utilizaron 11 tipos de eritrocitos diferentes (el panel de 11 células), luego de que se incubaron y centrifugaron las tarjetas con la mezcla plasma-eritrocitos, se observó si hubo aglutinación o no con cada una de las 11 células. (Los procedimientos detallados se observan en la sección de material y métodos).

Con los resultados de las once células el anticuerpo quedó tipificado según su comportamiento de aglutinación, pero para conocer el nombre de dicho anticuerpo se tuvo que realizar un método muy sencillo, conocido como el método de Ruling Out.

El método de Ruling Out consistió en una tabla que contenía los resultados de aglutinación entre las 11 células del kit y los anticuerpos irregulares más comunes, de dicha tabla se eliminaron los AI's cuyos resultados de aglutinación fueron diferentes a los del plasma a identificar, partiendo de la célula No.1 en orden correlativo hasta llegar a la célula número 11, con la finalidad de eliminar de la tabla todos los anticuerpos irregulares a excepción de uno, que fue el anticuerpo buscado. La tabla del Ruling Out se observa en el Anexo V (Tabla 3), y para mayor información sobre el detalle de este procedimiento ver la sección de material y métodos.

Para encontrar las 200 muestras con anticuerpos irregulares se tuvieron que rastrear 1,111 plasmas de pacientes, lo que dio como resultado un porcentaje de frecuencia de anticuerpos irregulares del 18%, como se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. Frecuencia de Anticuerpos Irregulares en los pacientes muestreados en el Hospital General San Juan de Dios, que requerían transfusión sanguínea

Total de pacientes muestreados	Pacientes positivos para anticuerpos irregulares	Frecuencia de Anticuerpos Irregulares	Frecuencia de Anticuerpos Irregulares expresada en porcentaje
1,111	200	0.18	18%

Fuente: datos experimentales, banco de sangre del Hospital General San Juan de Dios, de julio a septiembre del 2,007.

Los anticuerpos irregulares que se tipificaron fueron 15 diferentes tipos específicos para los sistemas: Rh-hr, Kell, Kidd, Lewis, Duffy, P, MNS y Lutheran. Para el sistema Rh-rh se determinaron los anticuerpos D y E, para el sistema Kell se encontraron los anticuerpos Js<sup>a</sup>, Js<sup>b</sup> y Kp<sup>a</sup>, para el sistema Kidd se determinaron los anticuerpos Jk<sup>a</sup> y Jk<sup>b</sup>, para el sistema Lewis se encontraron los anticuerpos Le<sup>a</sup> y Le<sup>b</sup>, para el sistema Duffy se encontró el anticuerpo Fy<sup>a</sup>, para el sistema P se encontró el anticuerpo P<sub>1</sub> que es el único para este sistema, para el sistema MNS se tipificaron los anticuerpos: M, N y S y para el sistema Lutheran se encontró el anticuerpo Lu<sup>a</sup>.

La distribución porcentual de cada uno de estos anticuerpos irregulares rastreados y tipificados se presenta en la Tabla 5.

Tabla 5. Frecuencia de cada uno de los anticuerpos irregulares encontrados en la población de estudio en el Hospital General San Juan de Dios

Anticuerpos irregulares encontrados	Frecuencia Absoluta	Porcentaje sobre el Total de AI's encontrados
Js <sup>a</sup>	58	29 %
E	35	17.5 %
D	25	12.5 %
Le <sup>b</sup>	16	8 %
Js <sup>b</sup>	11	5.5 %
Kp <sup>a</sup>	10	5 %
M	9	4.5 %
C	8	4 %
Le <sup>a</sup>	8	4 %
Fy <sup>a</sup>	7	3.5 %
N	6	3 %
S	4	2 %
Lu <sup>a</sup>	1	0.5 %
P <sub>1</sub>	1	0.5 %
JK <sup>a</sup>	1	0.5 %
Total general	200	100 %

Fuente: datos experimentales, banco de sangre del Hospital General San Juan de Dios, de julio a septiembre del 2,007.

Se hizo una clasificación por servicio del hospital donde se encontraban internados los pacientes cuyas muestras dieron resultados positivos para anticuerpos irregulares. Esta clasificación se basó en distribuir porcentualmente el total de anticuerpos irregulares encontrados respecto a cada servicio. En la Tabla 6 se puede observar dicha clasificación.

En toda investigación que se realice en bancos de sangre, es importante registrar como información básica el grupo sanguíneo de los receptores y los pacientes cuyas muestras sean estudiadas. Por ello en este trabajo se identificaron los grupos sanguíneos a los cuales correspondían los plasmas en los que se encontraron los anticuerpos irregulares. Estos datos se pueden observar en la Tabla 7.

Tabla 6. Frecuencia de los anticuerpos irregulares encontrados por servicio, en los pacientes muestreados del Hospital General San Juan de Dios

Nombre del servicio	Abreviatura	Frecuencia Absoluta	Porcentaje sobre el Total de AI's encontrados
Emergencia de medicina general	EMA	56	28%
Medicina de hombres	MH	38	19 %
Medicina de mujeres	MM	28	14 %
Emergencia de cirugía	ECA	22	11 %
Ginecología	GINE	9	4.5 %
Urología	URO	6	3 %
Unidad de cuidados intermedios	UCIM	6	3 %
Unidad de cuidados intensivos	UCIA	6	3 %
Hematología	HEMA	5	2.5 %
2da cirugía de mujeres	U14	3	1.5 %
Traumatología de Hombres	TH	3	1.5 %
Neurocirugía	NC	3	1.5 %
Emergencia de medicina general	EMA	2	1 %
Unidad de cuidados coronarios	UCC	2	1 %
Unidad 5	U5	1	0.5 %
Nefrología	NEFRO	1	0.5 %
1a. Cirugía de hombres	ICH	1	0.5 %
Traumatología	TR	1	0.5 %
Hematología de mujeres	HEMA M	1	0.5 %
1ra. Cirugía de hombres	U15	1	0.5 %
2da. Cirugía de hombres	U16	1	0.5 %
3ra. Cirugía de hombres	3CH	1	0.5 %
Hematología de hombres	HEMA H	1	0.5 %
Cirugía de hombres	2CH	1	0.5 %
Cirugía de tórax	CT	1	0.5 %
Total		200	100 %

Fuente: datos experimentales, banco de sangre del Hospital General San Juan de Dios, de julio a septiembre del 2,007.



Tabla 7. Frecuencia de los grupos sanguíneos presentes, en el total de los pacientes muestreados en este estudio

Grupo sanguíneo	Frecuencia en pacientes con AI's	Porcentaje (con AI's)	Frecuencia en el resto de pacientes muestreados	Porcentaje (sin AI's)	Frecuencia absoluta total	Porcentaje total
O+	128	64%	647	71%	775	69.75%
O-	23	11.5%	64	7%	87	7.83%
A+	22	11%	191	21%	213	19.17%
B+	21	10.5%	9	1%	30	2.7%
AB+	4	2%	0	0%	4	0.36%
B-	2	1%	0	0%	2	0.18%
Total	200	100%	911	100%	1,111	100%

Fuente: datos experimentales, banco de sangre del Hospital General San Juan de Dios, de julio a septiembre del 2,007.

La distribución por género en los pacientes con anticuerpos irregulares demostró que la diferencia fue del 14.6 % más en hombres que en mujeres, dado que el 57.3 % correspondió a los hombres y el 42.7 % a las mujeres, como se observa en el Anexo VI (Gráfico 1).

En la Tabla 8 se muestran los porcentajes de todos los anticuerpos irregulares encontrados en el Hospital General San Juan de Dios, clasificados por género.

Tabla 8. Distribución de la frecuencia absoluta y porcentaje por género de cada uno de los anticuerpos irregulares encontrados en los pacientes muestreados en el Hospital General San Juan de Dios

AI's	Mujeres		Hombres		Totales	
	Frecuencia Absoluta	Porcentaje de los AI's encontrados	Frecuencia Absoluta	Porcentaje de los AI's encontrados	Frecuencia Absoluta	% AI's
Js <sup>a</sup>	22	11%	36	18%	58	29%
E	21	10.5%	14	7%	35	17.5%
D	8	4%	17	8.5%	25	12.5%
Le <sup>b</sup>	5	2.5%	11	5.5%	16	8%
Js <sup>b</sup>	4	2%	7	3.5%	11	5.5%
Kp <sup>a</sup>	4	2%	6	3%	10	5%
M	4	2%	5	2.5%	9	4.5%
Le <sup>a</sup>	4	2.5%	4	1.5%	8	4%
C	5	2%	3	2%	8	4%
Fy <sup>a</sup>	2	1%	5	2.5%	7	3.5%
N	2	1%	4	2%	6	3%
S	2	1%	2	1%	4	2%
Jk <sup>a</sup>	1	0%	0	0.5%	1	0.5%
Lu <sup>a</sup>	1	0.5%	0	0%	1	0.5%
P <sub>1</sub>	0	0.5%	1	0%	1	0.5%
Total general	85	42%	115	58%	200	100%

Fuente: datos experimentales, banco de sangre del Hospital General San Juan de Dios, de julio a septiembre del 2,007.

## IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La frecuencia de anticuerpos irregulares que se observó entre los meses de julio a septiembre del año 2,007, en pacientes internados en el Hospital General San Juan de Dios (HGSD) y que requerían transfusiones sanguíneas fue de 0.18, es decir el 18 % del total de los pacientes estudiados. Estos datos representan el riesgo que corre la población que ha sido expuesta a antígenos eritrocitarios extraños, a presentar síntomas derivados de reacciones post transfusionales, prácticamente 1 de cada 5 casos. Aunque entre los AI's encontrados algunos no provocan reacciones severas, y en otros los síntomas son casi nulos, no se puede restar importancia a los resultados que se obtuvieron en esta investigación, pues entre los anticuerpos que se encontraron en mayor porcentaje existen algunos capaces de producir reacciones de alta peligrosidad para los pacientes que reciben transfusiones sanguíneas.

Los AI's que se encontraron en mayor porcentaje con respecto al total de AI's encontrados son: el Js<sup>a</sup> (29%), el E (17.5%), el D (12.5%) y el Le<sup>b</sup> (8%), como se observa en la sección de resultados (Tabla 5).

El anticuerpo Js<sup>a</sup> aparece con un porcentaje del 5.22 % sobre el total de la población en el estudio, que lo convierte en el anticuerpo irregular con mayor frecuencia en esta investigación. Este anticuerpo causa reacciones transfusionales del tipo severo y si no son tratadas de inmediato pueden producir daños a nivel sistemático e incluso pueden causar la muerte del paciente. La importancia de este anticuerpo se debe tanto a la alta frecuencia que posee, como a la severidad de las reacciones que provoca, y no se puede descartar su determinación en el plasma de los receptores sanguíneos.

El anticuerpo E es el segundo tipo de anticuerpo irregular encontrado con mayor frecuencia; tiene un porcentaje del 3.16% sobre la población estudiada, y el 17.5% de los anticuerpos irregulares encontrados. La peligrosidad de este anticuerpo varía debido a dos aspectos: primero, que la severidad de la reacción será directamente proporcional al título

que haya de este en el plasma del paciente y el segundo aspecto, quizá el más importante, es la naturaleza genotípica del antígeno al que ataca, si este es de características homocigotas la reacción será severa y si es heterocigoto las reacciones serán leves o moderadas. Como no se pueden estar identificando los genotipos de todos los antígenos de los receptores antes de cada transfusión, porque sería muy costoso y requeriría de más tiempo, lo mejor es considerar al anticuerpo E como de alta peligrosidad, sin estar a la expectativa de que la reacción que produzca vaya a ser leve o moderada (7).

El porcentaje de frecuencia del anticuerpo D fue de 2.25% con respecto a la población en general, y de 12.5% con respecto al total de AI's encontrados. De igual manera que en el caso del anticuerpo E, si el antígeno D para el cuál es específico resulta ser homocigoto (DD) la reacción será severa, y si es un heterocigoto (Dd) la reacción variará entre moderada ó leve. Es por ello que es necesario tomar las mismas consideraciones que se toman con el anticuerpo E, con respecto a la peligrosidad de las reacciones transfusionales que el anticuerpo D pueda ocasionar.

El número de casos con anticuerpos D, como era de esperarse, equivale al número de pacientes que eran Rh negativo, que fueron sensibilizados por eritrocitos Rh positivo. De estos casos 24 fueron "O negativo" y 2 fueron "B negativo". Al sumarse se obtuvo un total de 26 casos que corresponden, como ya se mencionó, al 12.5% del total de anticuerpos irregulares encontrados.

El anticuerpo  $Le^b$  se encontró en un porcentaje de 1.44% sobre la población estudiada y un 8 % en relación con el total de los AI's hallados. La característica que hace que este anticuerpo sea diferente a todos los demás que se encontraron en la investigación, es que bajo ninguna circunstancia puede producir algún tipo de reacción post transfusional, esto se debe a que no tiene la capacidad de fijar complemento ni tampoco puede llevar a cabo la lisis eritrocitaria mediada por macrófagos. Este es un dato alentador pues la frecuencia del anticuerpo  $Le^b$  es relativamente elevada con respecto al resto de los AI's que

se encontraron, pero no representa ningún riesgo de producir reacciones post transfusionales (23).

Otro dato curioso es que el anticuerpo  $Le^a$  que es específico para el antígeno  $Le^a$  que tiene características biomoléculares similares a las del antígeno  $Le^b$ , es responsable de las reacciones transfusionales más severas que se conocen, lo que indica que una pequeña variación en la estructura molecular de los antígenos puede determinar que haya aglutinación eritrocitaria o no (24).

Los anticuerpos que se encontraron en un porcentaje moderado sobre el total de AI's encontrados son los siguientes: el  $Js^b$  (5.5%), el  $Kp^a$  (5%), el M (4.5%), el C (4%), el  $Le^a$  (4%) y el  $Fy^a$  (3.5 %), como se observa en la sección de resultados (Tabla 5).

El anticuerpo  $Js^b$  representa 0.99% de la población estudiada, la importancia de este anticuerpo radica en que tiene la capacidad de producir hemólisis extravascular por medio de macrófagos aunque no activa el complemento. Y como su frecuencia es moderada como lo muestran los resultados del estudio, su presencia no está exenta en los pacientes internados en el HGSD que hayan tenido transfusiones previas, ó embarazos previos en caso de las mujeres.

Los anticuerpos  $Kp^a$  y M fueron encontrados en el 0.9% y 0.81% respectivamente en la población estudiada. El anticuerpo  $Kp^a$  es específico para el antígeno  $Kp^a$  del sistema Kidd, y tiene la capacidad de producir hemólisis intravascular valiéndose de la fijación del complemento, además ocasiona reacciones que van de leves a moderadas. Mientras que el anticuerpo M por medio de hemólisis extravascular ocasiona la enfermedad hemolítica del recién nacido con el peligro latente de hidrocefalia, también se conoce su participación en complicaciones luego de una transfusión por el mismo mecanismo (14).

El resto de anticuerpos irregulares con frecuencia moderada son: el C, el  $Le^a$ , y el  $Fy^a$ , los dos primeros con 0.72% y el tercero con 0.63 % de frecuencia en la población

total. El anticuerpo  $Fy^a$  es una inmunoglobulina de tipo IgG que produce aloinmunización fetomaterna y complicaciones postransfusionales, mientras que con el anticuerpo C la intensidad de la reacción varía entre leve, moderada o aguda. El anticuerpo  $Le^a$  es específico para el antígeno  $Le^a$  del sistema Lewis y a diferencia del resto de los AI's específicos para dicho sistema, que no tienen la capacidad de desarrollar una reacción hemolítica, el  $Le^a$  ocasiona reacciones transfusionales que van de moderadas hasta las más severas que se conocen (7,23).

Como se explicó con anterioridad todos los anticuerpos con frecuencia moderada son de importancia clínica, ya sea en forma leve, moderada ó aguda, todos producen reacciones post transfusionales, y su rastreo y tipificación son tan importantes como las de los anticuerpos que presentaron mayores tasas de frecuencia.

Los anticuerpos que fueron encontrados con menor frecuencia, se presentan en orden descendente de acuerdo con su porcentaje sobre el total de AI's encontrados en el estudio: el N (3%), el S (2%), el  $Lu^a$  (0.5%), el  $P_1$  (0.5%) y el  $Jk^a$  (0.5%), como se observa la sección de resultados (Tabla 5).

El anticuerpo N es una aglutinina que en la mayoría de los casos se presenta como IgM y en pocas ocasiones se ha encontrado como IgG. Nunca se ha observado que el anticuerpo N cause reacciones de aglutinación *in vivo*, los únicos casos donde este anticuerpo ha ocasionado aglutinación han sido *in vitro*. Por ello no representa ninguna amenaza de reacción transfusional de gravedad para los receptores sanguíneos, y debido a este hecho la frecuencia en que se encontró en este estudio no tiene ninguna relevancia (27).

El anticuerpo  $Lu^a$  puede causar reacciones post transfusionales muy débiles a menos de  $37^{\circ} C$ , por ser un anticuerpo IgM. Las reacciones que puede provocar, no van más allá de un leve aumento de la temperatura que pasa por sí solo, y tomando en cuenta que la frecuencia que tiene sobre el total de la población que es el 0.18% y que representa el 2%

de los anticuerpos irregulares que se encontraron, no se considera un anticuerpo de alto riesgo (34).

El anticuerpo P<sub>1</sub> con un porcentaje de 0.09 % sobre la población estudiada, actúa como aglutinina fría con capacidad hemolítica generalmente cuando se transfunde en cirugías con hipotermia artificial como las cardiovasculares, por lo tanto sí ocasiona reacciones debido a transfusiones. El anticuerpo Jk<sup>a</sup> también se encontró en un 0.09 % de la población estudiada, y junto con el anticuerpo Le<sup>a</sup> son responsables de las reacciones post transfusionales más severas que se conocen. Es por ello que es importante prestar mucha atención por parte del personal médico como del banco de sangre, en los casos donde aparezcan los anticuerpos Jk<sup>a</sup> y Le<sup>a</sup>, que aunque presentan baja frecuencia la severidad de las reacciones que ocasionan puede ser letal (22, 31).

Por último está el anticuerpo S con 0.36% sobre el total de la población, es inofensivo como tal, pero tiene una variante conocida como anti-U que produce hemólisis. Esta variante es muy poco común dentro de los sistemas sanguíneos, por lo que no representa una amenaza latente para la población guatemalteca en general, e incluso a nivel mundial son muy pocos los casos en los que se ha encontrado, tanto así que su determinación no está contemplada en los kits de tipificación de anticuerpos irregulares (28).

Aunque la frecuencia de varios de los anticuerpos irregulares que se encontraron en esta investigación fue muy baja, es importante enfatizar que por muy pocos que sean los casos de reacciones post transfusionales que estos provoquen, son vidas humanas las que corren el riesgo de ser afectadas, y aunque existen AI's que presentaron baja frecuencia tienen la capacidad de ocasionar reacciones severas si no se tratan a tiempo, tal es el caso de los anticuerpos Jk<sup>a</sup> y Le<sup>a</sup>.

Es por ello que la determinación de AI's siempre será un procedimiento de mucha importancia a la hora de realizar exámenes previos a las transfusiones sanguíneas, sin importar la frecuencia que cada anticuerpo haya presentado en esta investigación.

Los servicios del hospital donde se encontró el mayor porcentaje de anticuerpos irregulares son: la emergencia de la medicina general donde se encontró el 28% del total de los AI's, en la medicina de hombres se encontró el 19% de AI's, en la medicina de mujeres se encontró el 14% y en la emergencia de cirugía general se encontró el 11% de los AI's, como se muestra en la sección de resultados (Tabla 6).

Estos servicios tienen la mayor cantidad de pacientes en el hospital y por lo tanto las probabilidades de encontrar AI's irregulares en estas áreas fueron mayores, porque los requerimientos de transfusiones sanguíneas para estos servicios superaron a los del resto, como lo indica la sección de resultados (Tabla 6).

De los pacientes que presentaron AI's el 64% tuvo como grupo sanguíneo el "O" positivo, que también predominó en el total de los pacientes muestreados, mientras que el segundo grupo sanguíneo de predominancia en pacientes con AI's, fue el grupo "O" negativo con 11.5% de frecuencia. Aunque del total de los pacientes muestreados el grupo "O" negativo solo apareció en el 7 %, disminuyendo su presencia en pacientes que no presentaron AI's, lo que demuestra que el Rh negativo contiene variantes antigénicas, que lo hacen muy propenso a sensibilizar al sistema inmune para producir AI's (6,7).

En cuanto al resto de los grupos sanguíneos presentes en los pacientes con AI's, se mencionan en orden de predominancia los grupos: "A" positivo con 11 %, "AB" positivo con 2% y "B" negativo con 1 %. La presencia de antígenos "A" y "B" o la ausencia de estos, no tiene ninguna relación con la sensibilización del sistema inmune para producir AI's, pero su determinación es de importancia estadística en cualquier estudio que se realice en bancos de sangre. Los porcentajes de los grupos sanguíneos en pacientes con AI's y en pacientes sin AI's, se observa en la Tabla 7 en la sección de resultados.



En el Anexo VI (Gráfico 1) se puede observar que del total de pacientes con AI's el 57.3% son hombres y el 42.7% son mujeres. Es muy común que los pacientes que son transfundidos en el HGSD hayan sido heridos por arma de fuego o por arma blanca y que el género predominante en estos incidentes es el masculino. Pero los casos de violencia contra la mujer también son altos, y aunados a los casos de mujeres con embarazos previos y a los casos donde reciben transfusiones debido a cirugías por enfermedad o accidentes, hace que el porcentaje de mujeres con AI's crezca y que no sea muy bajo con respecto al del género masculino. Un ejemplo claro es la alta frecuencia de AI's en la medicina de mujeres, que se aprecia en la sección de resultados (Tabla 6).

Al analizar los resultados obtenidos haciendo una clasificación por género, se puede apreciar que el anticuerpo con mayor frecuencia tanto en hombres como en mujeres fue el Js<sup>a</sup> que se encontró en el 18% de los hombres y en el 11% de las mujeres con AI's, esta diferencia es importante, y marca la tendencia de predominio de dicho anticuerpo en el género masculino. También se observa que los siguientes tres anticuerpos irregulares con mayor frecuencia para ambos géneros son los mismos (D, E y Le<sup>b</sup>), donde lo único que varía es el orden en que aparecen, dado que el anticuerpo E tiene mayor frecuencia que el anticuerpo D en el género femenino, mientras que en el género masculino la situación es a la inversa. Y por último, el cuarto anticuerpo en frecuencia para ambos sexos es el anticuerpo Le<sup>b</sup>, como se observa en los resultados (Tabla 8).

De los cuatro anticuerpos con mayor frecuencia en ambos sexos, el anticuerpo E es el único que se encontró en mayor frecuencia en mujeres que en hombres mientras que los otros tres anticuerpos se encontraron más en hombres que en mujeres.

En el caso del anticuerpo Js<sup>b</sup> que representa el 5.5% del total de AI's encontrados, el 3.5% correspondió al género masculino y el 2% al femenino. En los anticuerpos Kp<sup>a</sup>, M, Le<sup>a</sup>, Fy<sup>a</sup> y N los porcentajes que incluyen a ambos sexos varían entre el 5% y el 3%, y a excepción del anticuerpo Le<sup>a</sup> el resto de los anticuerpos predominan en el género masculino. Las diferencias porcentuales entre géneros varían y se presentan así: el

anticuerpo Fy<sup>a</sup> con el 1.5%, el Kp<sup>a</sup> con el 1%, el N con el 1% y M con el 0.5%, todas estas diferencias porcentuales fueron favorables al género masculino, y la diferencia del 1% para el anticuerpo Le<sup>a</sup> favorable al género femenino, como se observa en la sección de resultados (Tabla 8).

Hubo dos casos donde el porcentaje fue el mismo en ambos géneros. El anticuerpo C que aparece con 2% para cada género, mientras que el anticuerpo S lo hace con 1%.

Además hubo anticuerpos que se encontraron en un solo género, como lo es el anticuerpo Jk<sup>a</sup> que se encontró en el 0.5% de los hombres, mientras que los anticuerpos Lu<sup>a</sup> y P<sub>1</sub> representaron respectivamente el 0.5% de frecuencia en mujeres, pero no se encontraron en el género masculino.

Ya sea en los casos donde los anticuerpos irregulares predominaron en hombres, como en los casos donde predominaron en mujeres, no hay bases suficientes para afirmar que el género esté relacionado con la presencia de cierto tipo de anticuerpo irregular, y si ese fuera el caso, se tendrían que seguir haciendo estudios con poblaciones mucho más grandes para poder establecer alguna tendencia.

## X. CONCLUSIONES

- A.** La frecuencia de anticuerpos irregulares en los pacientes muestreados que requerían transfusiones sanguíneas en los diferentes servicios del Hospital General San Juan de Dios fue de 18%.
- B.** Dentro de los anticuerpos irregulares encontrados en este estudio, los que se encontraron con mayor frecuencia fueron: el Js<sup>a</sup> (29%), el E (17.5%), el D (12.5%), y el Le<sup>b</sup> (8%).
- C.** Del total de pacientes con anticuerpos irregulares se observó que el 57.3 % fueron hombres y el 42.7 % fueron mujeres.
- D.** La distribución porcentual de los grupos sanguíneos en pacientes con anticuerpos irregulares se presentó así: “O” positivo (64%), “O” negativo (11.5%), “A” positivo (11%), “B” positivo (10.5%), “AB” positivo (2%) y “B” negativo (1%).

## XI. RECOMENDACIONES

- A. Implementar dentro del protocolo de pruebas de rutina que se realizan en las muestras de los receptores sanguíneos del Hospital General San Juan de Dios, el rastreo y la tipificación de anticuerpos irregulares, para evitar reacciones post transfusionales que pongan en peligro la vida de los pacientes luego de ser transfundidos.
- B. Continuar con la recolección de datos sobre anticuerpos irregulares en receptores sanguíneos, de manera que la información estadística se mantenga actualizada y así mejorar los procedimientos de acuerdo con los nuevos datos que vayan surgiendo.
- C. Dar a conocer los resultados de esta investigación al personal médico y técnico del banco de sangre para que al encontrar algún anticuerpo irregular en el suero de los receptores, se tomen las medidas necesarias pertinentes al caso, ya sea descartar el uso de ciertas unidades sanguíneas o realizar la transfusión con estrictas medidas de monitoreo y prevención.
- D. Que el personal médico llene correctamente las órdenes de solicitud de unidades sanguíneas, especialmente los datos relacionados con la historia clínica de los pacientes, para que cuando haya necesidad de una nueva transfusión, se conozcan los antecedentes de los pacientes y se tomen las medidas preventivas en cada caso.
- E. Que los datos obtenidos en la presente investigación sean presentados a las autoridades hospitalarias, con el objeto de hacer de su conocimiento los beneficios y ventajas de efectuar el rastreo de anticuerpos irregulares, en los pacientes hospitalizados, previo a ser transfundidos.

## XII. REFERENCIAS

1. Mollison PL. Blood transfusion in clinical medicine. 6ta edición, Blackwell scientific Publications, London; 1995, pp. 240-242.
2. Rao N, Ferguson DJ. Identification of human erythrocyte blood group antigens. *J Immunol*; 2001. pp 146.
3. Schemkel R, Brumier H. Human blood groups, chemical and biochemical basis of antigen specificity. Springer-Verlag, Alemania; 1995, pp. 146.
4. Daniels G. Blood groups polymorphism: molecular approach and biological significance. 2nd edition, Transfusion Clinical-Biological, Londres; 1997, pp 90.
5. Rouger P, Penuec L. The future of blood group and other markers in reference laboratories. *Transfusión-Clinical-Biological*, 3a. ed; 1995, pp 34.
6. Allen F.H, Tippet, PA. A new Rh blood type which reveals the Rh antigen G. *Vox sang*. 4ta. Ed; 1,998, pp. 321.
7. Huang CH, Lui PZ, & Cheng JG. Molecular Biology and Genetics of the Rh Blood Group System. Ed Seminars, Miami Florida, pp. 150-165.
8. Cartron JP, Rue A. Rh Red Blood Groups and Molecular basis of Rh deficiency. *Baillière's Clinical Hematology*, Ed Beha. New York, USA; 2,000. Vol 12: N. 4 pp. 485-486.
9. Race RR, Sanger R. The Rh Blood Groups. *Blood groups in man*. Blackwell 6ta. Ed. Oxford; 2,002, pp. 178.
10. Eyers SA, Ridwell K, Mawby WJ. Topology and organization of human Rh blood group-related polypeptides. *J Biol Chem*; 2004. Marzo-Abril, pp.269.
11. Marsh WL, Redman CD. Recent developments in the Kell group system. *Tranfus Med Rev*; 1,999, pp. 4-20.
12. Marsh WL, Redman CD. The Kell group system. *Tranfus Med Rev*; 1,998, vol 30, pp. 4-20.
13. Lee S. Molecular basis of Kell blood group phenotypes. *Vox Sanguinis*; 2003, pp 1-11.

14. Lee S, Redman CM, Redid ME, Naime DS. Molecular basis for high-incidence antigens of the Kell blood group system transfusion. 5ta ed, Whirminhan ed; 1,997 pp. 22-37.
15. Schifferli JA, Walpor Mj. Immune complexes and erythrocytes. Clinical and experimental immunology. Ed CRI; 2005, pp. 481-485.
16. Kathy D, Blaneg M, Howard P. Basis and applied concepts of immunohematology. Ed Mosby. St. Louis Missouri; 2,005, pp. 86, 87.
17. Marion E, Vered Y. Blood groups and their function. Baillière's Clinical Hematology. Ed Beha. New York, USA; 2,000, pp. 485-490.
18. Greenwell P. Blood group antigens: molecules seeking a function. GJ; 2,002, pp. 159-163.
19. Issitt PD, Ansee Dj. Applied blood group serology, 4ta. Ed, Durham NC. Montgomery Scientific Publications; 2,000, pp. 234.
20. Reid M, Spring FA. Molecular basis of glycoproteins and their associate blood group antigen. Tranfus Med Rev. Ed Mdf; 2,000, 139-149.
21. Win P, Amess P & Needs M. Transfusion Medicine. Anti-JK hemolytic disease. Ed. Hewist. Boston; 2005, pp. 225-228.
22. Avent ND, Lui W, Warner KM. Immunochemical analysis of the human erythrocyte polypeptides. J Biol Chem: 271: pp. 14233-14239.
23. Bailly P, Hermand P, Callebaut I et al. The LW blood group glycoprotein is homologous to intercellular adhesion molecules. PNAS; 1994, pp 91.
24. Bailly P, Hermand P, Callebaut I. The LW blood group glycoprotein is homologous to intercellular adhesion molecules. Proc Natl Acad Sci; 1994, pp. 530.
25. Frazer R, Munro A. Williamson A. Monoclonal anti-N, physicochemical characterization and assestment for routine boold gouping. Ed Immunogenetics, Chicago; 1,999, pp 303.
26. Levine P, Stetson RE. An unusual case of intragroup agglutination. Journal of the American Medical Asociation; 1999, pp. 26,27.

27. André R, Dreyfus B, Salomon C. Isoimmunization antierythrocytes. *Etude Clin Biol*; 1998. pp. 33.
28. Archer G, Kooptzoff O. Blood group antigens in white cells. 3ra. Ed, *Biología médica*. New Jersey; 1998.
29. Linares J. *Inmunohematología y banco de sangre*. Ed. Cromotip. Caracas Venezuela; 1986.
30. Heuft H, Weisbach V, Zeiber T. Anti-M after transfusion as an indication of a genetic variant of the MN locus. *J Immunol*; 1992, vol 30, pp. 391.
31. Ballas S, Digman C, Harris m. A clinically significant anti-N in patient whose red cells were negative for N and U antigens. *Tranfus Med Rev*; 1985, vol 25, pp.377.
32. Callender S, Race R, Payakoc Z. Hypersensitivity to transfused blood. *Br J Biomed Sci*;1995, pp. 83.
33. Green walt T, Sasaki T. The MNS groups: many examples of each antigen. *Beteshda*. New York; 1992, vol 12, pp. 998.
34. phen F. Parson D. Erytroid cell Adhesion molecules: Lutheran and LW antigens in health and disease. *Baillière's Clinical Hematology*. Ed Beha. New York, USA; 2,000.Vol 12, N.4, pp. 729-745.
35. Parsons SF, Mallinson G, Judson PA et al. Evidence that the Lub blood group antigen is located on red cell membrane glycoproteins of 85 and 78 kd. *Tranfus Med Rev*. 1,999; 27: 61,63.
- 36 Daniels GL & Khalid G. Identification, by immunoblotting, of the structures carrying Lutheran and para-Lutheran blood group antigens. *Vox Sanguinis*; 1989, pp.57.
37. Parsons SF, Mallinson G, Holmes CH et al. The Lutheran blood group glycoprotein, another member of the immunoglobulin superfamily, is widely expressed in human tissues and is developmentally regulated in human liver. *Proc Natl Acad Sci*; 1995, pp 250-252.
38. Rodillo A. *Medicina Transfusional*. Ed Prado. México D.F ; 1,999, pp. 35-39.
39. Becomo A, Valdez M. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter*. Edición[Internet 2,005]Index3.htm. [www.imbiomed.com.mex](http://www.imbiomed.com.mex).

40. Bowman JM. Immune hemolytic disease. En: Nathan DG, Orkin SH, ed. Hematology of infancy and childhood. 5ta. Ed Philadelphia; 1998, pp 53-78.
41. Clóvis P. Enfermedad hemolítica. En: López Borrasca A. Enciclopedia Iberoamericana de Hematología. Ediciones de Salamanca, Salamanca; 1992, pp. 224-238.
42. De Palma L, Luban NCL. Alloimmune hemolytic disease. 5ta. Ed, Wuilliams Hematology, M<sup>c</sup>Grew Hill , New York; 1995.
43. Foester J. Alloimmune hemolytic anemias: clinica hematology. 10ma. Ed, Williams and Winkins, Baltimore; 1998, pp. 10-15.
44. Noble R. Blood volumen in clinical Shock. 5 ed., beteshda; 1999. pp 31.
45. Zipursky A. Bowman JM. Isoimmune hemolytic diseases. Hematology of infancy and childhood, 4ta. Ed, Saunders, Philadelphia; 1993, 70-73.
46. Klemperer MR. Anemia hemolítica por incompatibilidad eritrocitaria. 3ra. Ed. Editorial científico-técnica, McMillan CW eds, La Habana; 1986, pp 231.
47. Lubenko A, Contreras H, Rodeck CH, Nocolini U, Savage J, Chana H. IgG sub class concentrations in pacientes at risk of hemolytic disease. Vox Sang; 1994, vol 67, pp. 256.
48. Catalán MA. Conceptos actuales en diagnóstico y tratamiento de la enfermedad hemolítica. Revista Argentina de Transfusión; 1996, vol 22, pp. 23-37.
49. Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. Blood transfusion in clinical medicine. 8va. Ed, Blackwell scientific, Oxford; 1987.
50. Gonzales C, Solórzano F, Banderas M. "Reacciones Transfusionales" : Boletín de la calidad, Hospital de Pediatría del CMN Siglo XXI IMSS, México d.f., may-jun-jul; 2004. <http://edumed.imss.gob.mx/pediatria//index/html>.
51. Pico MC, Giralдино IG, Otero A. Inmunología experimental. La Habana; 1997.
52. Valdez Y, Benamo A. Reacciones post-transfusionales. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter, Ed. Del Vago, La Habana; 2004.
53. Deve T, Devenish A. Delayed hemolytic transfusion reaction due to simultaneous appearance of anti-Fya and anti Fy-5. Vox Sang; 1998, pp.35.



54. Oberdofer H. A second example of anti-Fy3 in the Duffy blood group system, 5 ed, editorial Fedrenloan, Miami; 2001. pp 57.
55. Engelfriet CP, Contreras M. Blood transfusion and clinical Medicine. 9th edition, editorial Blackwell, London; 1993, pp 204-245.
56. Swisher SN, Young LE. Studies of the mechanisms of erythrocyte destruction initiated by antibodies. Trans. Assoc. Amer. Physicians, San Francisco; 1994, pp 67,124.
57. Hadley A. Predicting the severity of haemolytic disease of new born. Transfus Med Rev; 2005.9: 302-310.
58. Francis B, Hatcher DE. Hemolytic disease of the new born. Transfusion. 2004. ed Ed. Mawesd, New York; 1998. pp.1:248.
59. Manual de uso clínico de la sangre en medicina pediátrica, neonatología, cirugía. ONG, Ginebra, Suiza. Interprint United. London; 2,002. pp. 138, 148, 149, 158.
60. Bowman JM, Harman FA. Erythroblastosis fetalis produced by Anti-K. Vox Sanguinis. 5ta. Ed; 2,006. 56;187-189.
61. Bowman J.M, Harman F.A, Manning C.R, Pollock J.M. Erythroblastosis fetalis produced by anti-k. Vox Sanguinis; 1989, vol 56, pp. 187–189.
62. Daniels G, Hadley A, Green C.A. Causes of fetal anaemia in haemolytic disease due to anti-K. Transfus Med Rev; 2003, pp. 115-116,
63. Hadley A.G. *In vitro* assays to predict the severity of haemolytic disease of the newborn. Transfus Med Rev; 1995, pp. 302–310.
64. Krueger A. Adenine metabolism during and after exchange transfusions in newborn infants with CPD adenine blood. Transfus Med Rev; 1996, vol 16, pp. 249–252.
65. Luban N. Neonatal red blood cell transfusions. VoxSanguinis; 2004, vol 87, pp. 184-188.
66. Luban, N, Strauss R.G, Hume H.A. Commentary on the safety of red cells preserved in extended-storage media for neonatal transfusions. Transfus Med Rev; 1991, vol 31, pp. 229–235.

67. Win N, Tillyer L. Severe haemolytic disease of the newborn (HDN) due to Anti-U, exchange transfusion with U-neg frozen red cells. *Tranfus Med Rev*; 2002, vol 12, pp. 27.
68. Allen K, Palmer J. *Manual Hyland de inmunohematología, Revisión concisa de principios y procedimientos*. Traben laboratories Inc. Los Angeles, California, EUA; pp. 99, 100, 101.
69. Scott Y., McArdle, B. & Parker, P.I. Column agglutination technologies. *Br J Biomed Sci*; 1997. pp. 54, 153.
70. Voak, D. The status of new methods for the detection of red cell agglutination. *Tranfus Med Rev*; 1,999, vol. 39, pp. 1037–1040.
71. Grey D., Connolly M. & Erber W.N. Comparison of low ionic diluents for use with the Diamed antiglobulin gel test. *Tranfus Med Rev* ; 2,002, vol. 12, 63–69.
72. Knight, R.C, de Silva, M. New technologies for red-cell serology. *Blood Rev*; 1996 vol. 10, pp. 101–110.
73. Lapiere Y, Rigal D, Adam J, Josef D, Meyer F, Greber S, Drot C. The gel test: a new way to detect red cell antigen-antibody reactions. *Tranfus Med Rev*; 1990, vol. 30, pp. 109–113.
74. Nance S.T, Meny G.M. Compatibility issues in neonatal and pediatric transfusion. In: *Pediatric Transfusion Medicine*. AABB Press, Bethesda; 2002, pp. 25–37.
75. Vamvakas E.C. Basic concepts. In: *Evidence-based: practice of transfusion medicine*. ed. Vamvakas; 1997, pp. 1-20.
76. AABB. *Documento Técnico*. 14th ed. Bethesda. American Association of Blood Banks; 2002
77. Bromilow I.M, Eggington J.A, Owen G.A, Duguid J.K. Red cell antibody screening and identification: a comparison of two column technology methods. *Br J Biomed Sci*; 1993, vol 50, pp. 329–333.
78. Byrne T, Nolan T, O'Donnell R. A comparison of two column agglutination technologies for routine antibody screening using the indirect antiglobulin technique. *Br J Biomed Sci*; 1996, 53, 193–195.

79. Castella, D., Cid, J., Panades, M. & Martin-Vega, C. One thousand seventy antibodies detected only by a 2-stage papain test: wanted and unwanted positive reactions. *J Immunol*; 1,997, vol. 7, pp. 122–124.
80. Bromilow, I.M. Low ionic diluents and the DiaMed antiglobulin gel test. *Tranfus Med Rev*; vol 12, pp. 329.
81. Scott Y, McArdele B, Parker P.I. Column agglutination technologies. *Br J Biomed Sci*: 1997, pp. 54, 153.
82. Beck, M.L., Hardman, J.T. & Briseno, A.M. Antibody detection using pooled sera and a solid phase system. *I Rev*; 1998, vol 7, pp. 73–75.
83. Vega Matos S, Cartagena A. Pruebas Especiales, Banco de Sangre. Especialistas técnicos Diamed Caribbean, Inc, Definiciones, Bogotá; 1,998. Doc. Tec. p. 11.
84. Prevalencia global de Anticuerpos Irregulares antieritrocitarios. *Revista Argentina de Transfusión*; Vol. XXXI, agosto-septiembre 2,005. N4. pp. 26.
85. Técnicas para la aplicación en el banco de sangre. *Rev Biomed, México*; 2,004. Disponible en [www.uady.mx/biomedic/revbiomed/rbs011216.pdf](http://www.uady.mx/biomedic/revbiomed/rbs011216.pdf)
86. Implementación de una técnica en microplaca en fase sólida para agrupamiento ABO, Rh y Anticuerpos Irregulares en la rutina de Banco de Sangre. *Revista Argentina de Transfusión*. Vol. XXXI, Octubre-Noviembre; 2,005. N4. pp. 33-35.
87. Anticuerpos monoclonales (AcMo) y recombinantes de medicina transfusional. *Revista Argentina de Transfusión* Vol XXXI; 2,005. enero-julio N 1-2. pp. 10-14.
88. Johansen B. Technical Manual. 4ta edición, Mcarty. Recolección de muestra en el laboratorio clínico, 2,004.
89. DiaMed AG. Instrucciones para el manufactureo para tarjeta gel natural DiaMed-ID. Diamed Caribbean, Suiza; 1999.
90. Mcgregor M. Case studies in transfusion medicine. American Society Pathologists; Doc. Tec. 1,999.
91. Malyska H, Weiland D. The gel test; *Laboratory Medicine*. American Society of Clinical Pathologists, 1999; 25: pp. 81-85.
92. Lansey. Direct Antiglobulin Testing in the New Millennium. AABB; 1999

93. Issit PD. Applied blood group serology. 4ta. edición, Montgomery Scientific Publications; 2005.
94. Quinley ED. Inmunohematology: Principles and Practice. 2da. Edición, editorial Lincoln-Raven publishers; 1999.
95. DiaMed AG. Instrucciones para el manufactureo para células rojas comerciales para rastreo de anticuerpos e identificación de anticuerpos ID-DiaPanel. Diamed Caribbean, Suiza; 2000.
96. DiaMed AG. Instrucciones para el manufactureo para tarjeta gel natural DiaMed-ID. Diamed Caribbean, Suiza; 1999.
97. DiaMed AG. Instrucciones para el manufactureo para tarjeta gel anti-IgG y poliespecífico (LISS/Coombs). Diamed Caribbean, Suiza; 2,001.
98. Oserlad C. Antiglobulin factors in human sera revealed by enzymatic splitting. 4a. ed, McGraw Hill, Massachusetts; 2003. pp 134.
99. Hernández J. Manual de Procedimientos de Banco de Sangre. IGSS zona 9, ciudad de Guatemala, 1999, pp 35-37.
100. Lansey. Accreditation Requirements Manual, Edición 6. Bethesda, MD: AABB; 2,005.
101. M,D. Standards for blood banks and transfusions services. 23 edición, Bethesda, AABB; 2005
102. Miller, D. Technical Manual. 15 edición, Bethesda; American Association of Blood Banks, 2005.
103. Lansey. Accreditation Requirements Manual, Edición 6. Bethesda, MD: AABB; 2,005.
104. M,D. Standards for blood banks and transfusions services. 23 edición, Bethesda, AABB; 2005
105. Miller, D. Technical Manual. 15 edición, Bethesda; American Association of Blood Banks, 2005.

### XIII. ANEXOS

#### Anexo I

**Tabla No.1**

Antígenos, subgrupos y anticuerpos del sistema ABO

Grupo	Subgrupo	Antigenos presentes	Anticuerpos específicos
O	-	Ninguno	anti-A anti-A <sub>1</sub> anti-B
A	A <sub>1</sub> A <sub>2</sub>	A+ A <sub>1</sub> A	anti-B
B	-	B	anti-A anti- A <sub>1</sub>
AB	A <sub>1</sub> B A <sub>2</sub> B	A+ A <sub>1</sub> +B A+ B	ninguno *

\* Los anticuerpos anti- A<sub>1</sub> se encuentran en 1% de sujetos A<sub>2</sub> y en un 25% de sujetos A<sub>2</sub> B

Fuente: Oserlad C. Antiglobulin factors in human sera revealed by enzymatic splitting. 4a. ed, Mcgraw Hill, Massachusets; 2003. pp 134 (98).

## Anexo II

Tabla 2.

Comportamiento Serológico de los Principales Anticuerpos de Diferentes Sistemas de Grupos Sanguíneos									
Anticuerpo	Hemólisis <i>in vitro</i>	Salina		Albúmina		Enzimas		Asociado con	
		4°C	22°C	37°C	AHC	37°C	AHC	EHRN	RTH
Anti-A *		Mayoría	Alguna	Rara	Mayoría	Mayoría hh	Mayoría hh	Si	Si
Anti-B *		Mayoría	Alguna	Rara	Mayoría	Mayoría hh	Mayoría hh	Si	Si
Anti-A,B *		Mayoría	Alguna	Rara	Mayoría	Mayoría hh	Mayoría hh		Si
Anti-A <sub>1</sub> ***		Mayoría	Rara	Rara	Rara	Mayoría hh	Mayoría hh	No	Rara
Anti-H **		Mayoría	Alguna	Rara	Alguna	Mayoría hh	Mayoría hh	No	Rara
Anti-H Bombay *		Rara	Rara	Rara	Mayoría	Mayoría hh	Mayoría hh	Si	Si
Anti-HI **		Mayoría	Alguna	Rara	Alguna	Mayoría hh	Mayoría hh	No	Rara
Anti-D *****		Rara	Rara	Rara	Mayoría	Mayoría hhh	Mayoría hhh	Si	Si
Anti-C ****		Rara	Rara	Rara	Mayoría	Mayoría hhh	Mayoría hhh	Si	Si
Anti-E *****		Alguna	Alguna	Alguna	Mayoría	Mayoría hhh	Mayoría hhh	Si	Si
Anti-c ***		Rara	Rara	Rara	Mayoría	Mayoría hhh	Mayoría hhh	Si	Si
Anti-e ***		Rara	Rara	Rara	Mayoría	Mayoría hhh	Mayoría hhh	Si	Si
Anti-C <sup>w</sup> ****		Alguna	Alguna	Alguna	Mayoría	Alguna hhh	Mayoría	Si	Si
Anti-K ***	o		Escasa	Alguna	Mayoría	Alguna hin	Mayoría hhi	Si	Si
Anti-k ***	o		Escasa	Escasa	Mayoría	Alguna hhi	Mayoría hhi	Si	Si
Anti-kp <sup>a</sup> ***	o		Alguna	Alguna	Mayoría	Alguna hhi	Mayoría hhi	Si	Si
Anti-kp <sup>b</sup> *****	o		Escasa	Escasa	Mayoría	Alguna hhi	Mayoría hhi	Si	Si
Anti-Js <sup>a</sup> ***	o		Escasa	Escasa	Mayoría	Escasa	Mayoría hhi	Si	Si
Anti-Js <sup>b</sup> ***	o		o	o	Mayoría	Escasa	o	Si	Si
Anti-Fy <sup>a</sup> ***	o		Rara	Rara	Mayoría	o	o	Si	Si
Anti-Fy <sup>b</sup> ***	o		Rara	Rara	Mayoría	o	Mayoría hhi	Si	Si
Anti-jk <sup>a</sup> ***	alguna		Escasa	Escasa	Mayoría	Alguna	Mayoría hhi	Si	Si
Anti-jk <sup>b</sup> ***	alguna		Escasa	Escasa	Mayoría	Alguna	Mayoría hhh	Si	Si
Anti-Le <sup>a</sup> **	o	Mayoría	Mayoría	Alguna	Alguna	Mayoría hhh	Mayoría hhh	No	Si
Anti-Le <sup>b</sup> **	o	Mayoría	Mayoría	Alguna	Alguna	Mayoría hhh	Mayoría hhh	No	Rara

Fuente: Hernández J. Manual de Procedimientos de Banco de Sangre. 1,999 (99)

continúa...

Tabla No. 2

Comportamiento Serológico de los Principales Anticuerpos de Diferentes Sistemas de Grupos Sanguíneos									
Anticuerpo	Hemólisis <i>in vitro</i>	Salina		Albúmina		Enzimas		Asociado con	
		4°C	22°C	37°C	AHC	37°C	AHC	EHRN	RTH
Anti-Le <sup>a+b</sup> (Le <sup>x</sup> ) <sup>**</sup>	o	Mayoría	Mayoría	Alguna	Alguna	Mayoría hhh	Mayoría hhh	No	Si
Anti-Le <sup>bh</sup> <sup>**</sup>	o	o	o	o	Rara	Mayoría hhh	Mayoría hhh	No	No
Anti-P <sub>1</sub> <sup>***</sup>	o	Mayoría	Escasa	Rara	Rara	Mayoría hhh	Mayoría hhh	No	Rara
Anti-Le <sup>a+b</sup> (Le <sup>x</sup> ) <sup>**</sup>	o	Mayoría	Mayoría	Alguna	Alguna	Mayoría hhh	Mayoría hhh	No	Si
Anti-Le <sup>bh</sup> <sup>**</sup>	o	o	o	o	Rara	Mayoría hhh	Mayoría hhh	No	No
Anti-P <sub>1</sub> <sup>****</sup>	o	Mayoría	Escasa	Rara	Rara	Mayoría hhh	Mayoría hhh	No	Rara
Anti-Le <sup>bh</sup> <sup>**</sup>	o	o	o	o	Rara	Mayoría hhh	Mayoría hhh	No	No
Anti-P <sub>1</sub> <sup>****</sup>	o	Mayoría	Escasa	Rara	Rara	Mayoría hhh	Mayoría hhh	No	Rara
Anti-P	o	Mayoría	Alguna	Alguna	Alguna	Alguna i	Alguna i	No	Si
Anti-T <sub>ja</sub> <sup>**</sup>	o	Mayoría	Escasa	Rara	Alguna	Mayoría hh	Mayoría hh	Si	Si
Anti-M <sup>****</sup>	o	Mayoría	Alguna	Alguna	Alguna	o	o	Escasa	Escasa
Anti-N <sup>****</sup>	o	Mayoría	Escasa	Rara	Rara	o	o	Raro	No
Anti-S <sup>*</sup>	o	Escasa	Alguna	Alguna	Mayoría	Raro iii	Raro iii	Si	Si
Anti-s <sup>*</sup>	o	o	Escasa	Escasa	Mayoría	Alguna iih	Alguna iih	Si	Si
Anti-U <sup>****</sup>	o	o	Raro	Alguna	Mayoría	Mayoría hhh	Mayoría hhh	No	No
Anti-Lu <sup>a</sup> <sup>****</sup>	o	Alguna	Mayoría	Escasa	Mayoría	Escasa hii	Escasa hii	Leve	Si
Anti-Lu <sup>b</sup> <sup>****</sup>	o	Escasa	Escasa	Escasa	Mayoría	Escasa hii	Escasa hii	Si	Si
Anti-Xg <sup>a</sup> <sup>****</sup>	o		Escasa	Escasa	Mayoría	o	o		
Anti-I <sup>**</sup>		Mayoría	Alguna	Rara	Rara	Mayoría hhh	Mayoría hhh	No	No
Anti-I <sup>**</sup>		Mayoría	Alguna	Rara	Rara	Mayoría hhh	Mayoría hhh	Posible	No
Anti-Di <sup>a</sup> <sup>****</sup>	o		Alguna	Alguna	Mayoría	Alguna n	Alguna n	Si	Si

Fuente: Hernández J. Manual de Procedimientos de Banco de Sangre. 1,999 (99).

continúa ...

Tabla No. 2

Comportamiento Serológico de los Principales Anticuerpos de Diferentes Sistemas de Grupos Sanguíneos										
Anticuerpo	Hemólisis <i>in vitro</i>	Salina			Albúmina		Enzimas		Asociado con	
		4°C	22°C	37°C	AHC	37°C	AHC	EHRN	RTH	
Anti-Yt <sup>a</sup> ***	o		o	o	Mayoría	o	Alguna	No	No	
Anti-Yt <sup>b</sup> ***	o				Todo			sin inf.	sin inf.	
Anti-Co <sup>a</sup> ***	o		o	o	Alguna	Alguna hhh	Mayoría hhh	Si	Si	
Anti-Co <sup>b</sup> ***	o		o	o	Alguna	Alguna hhh	Mayoría hhh	sin inf.	sin inf.	
Anti-Do <sup>a</sup> ***	o		o	o	Alguna	Alguna hhh	Mayoría hhh	No	Si	
Anti-Do <sup>b</sup> ***	o				Todo		Todo hhh	sin inf.	sin inf.	
Anti-Sc <sup>1</sup> ***	o				Todo			sin inf.	sin inf.	
Anti-Sc <sup>2</sup> ***	o		Alguna	Alguna	Mayoría	Mayoría hhh	Mayoría hhh	sin inf.	sin inf.	

\* Origen Nativo y Origen Inmune

\*\* Origen Nativo

\*\*\* Origen Inmune

\*\*\*\* Origen Nativo y origen Raro/Alguno Inmune

\*\*\*\*\* Origen Alguno Nativo y Origen Inmune

AHC Fase de Coombs

RTH Reacción transfusional Hemolítica

EHRN Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido

n No cambio (nula)

sin inf. Sin información

o Si hay reacción

casilla en blanco No hay reacción

h reacción alta

i reacción intermedia o leve

hhi 66 % de los AI's tienen reacción alta y el 33% leve

hh 66 % de los AI's tienen reacción alta

hhh El total de los AI's tiene reacción alta

ii 66% de los AI's tienen reacción leve

iii El total de los AI's tienen reacción leve

alguna i Los AI's pueden reaccionar, y si hay reacción será leve

alguna n Los AI's pueden tener alguna reacción como también la reacción puede ser nula

Fuente: Fuente: Hernández J. Manual de Procedimientos de Banco de Sangre. 1,999 (99).



**Anexo III**  
**FICHA DE INFORMACIÓN**  
**DE LOS PACIENTES A SER TRANSFUNDIDOS**

Nombre del paciente \_\_\_\_\_

Cédula \_\_\_\_\_ Edad \_\_\_\_\_ Raza \_\_\_\_\_ Sexo \_\_\_\_\_

HISTORIAL MÉDICO

Diagnóstico \_\_\_\_\_

¿Paciente con anemia? Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_ (Hgb \_\_\_\_\_ gms.) Paciente sangrando Si \_\_\_ NO \_\_\_

¿Transfusiones Previas? Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_ Fecha/Componentes \_\_\_\_\_

¿Historial de reacción a Transfusión? Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_ Explique \_\_\_\_\_

¿Identificación de anticuerpos previa? Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_ Hallazgo \_\_\_\_\_

¿Paciente embarazada? Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

¿Embarazos previos? (incluyendo abortos) Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_ ¿Cuántos? \_\_\_\_\_

Medicamentos \_\_\_\_\_

HALLAZGOS SEROLÓGICOS

ABO \_\_\_\_\_ Rh \_\_\_\_\_

Coombs directo Poliespecífico \_\_\_\_\_ Anti-IgG \_\_\_\_\_ Anti-C3d \_\_\_\_\_

Coombs indirecto (Rastreo de Anticuerpos)

Rastreo inicial (células tipo I, II y III marca Diamed Caribbean®) positivo/negativo

Si el rastreo inicial es positivo:

Tipificación de el(los) anticuerpos irregulares encontrados (panel de 11 células, marca Diamed Caribbean®)

Fuente: Lansley. Accreditation Requirements Manual. 2,005 (100).

## Anexo IV

Criterios de clasificación de las reacciones de aglutinación

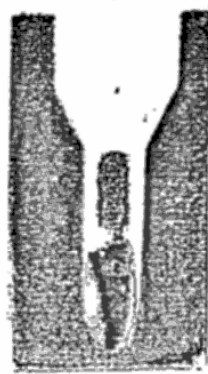
# ID-MTS Reaction Grading Chart



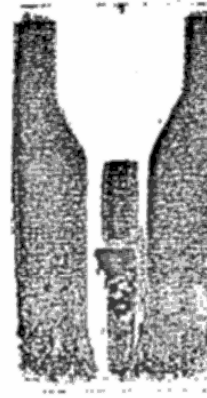
A negative reaction is characterized by unagglutinated red cells forming a well-delineated pellet at the bottom of the microtube.



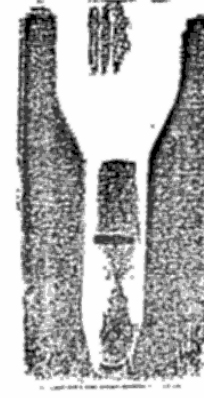
A 1+ reaction is characterized by red cell agglutinates predominantly observed in the lower half of the gel column. Unagglutinated cells form a pellet in the bottom of the microtube.



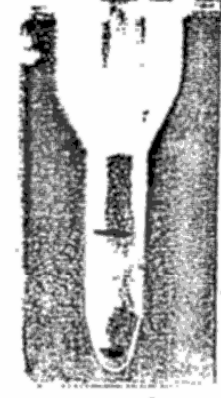
A 2+ reaction is characterized by red cell agglutinates dispersed throughout the length of the gel column. Few agglutinates may be observed in the bottom of the microtube.



A 3+ reaction is characterized by the majority of red cell agglutinates trapped in the upper half of the gel column.



A 4+ reaction is characterized by a solid band of red cell agglutinates on top of the gel. A few agglutinates may filter into the gel but remain near the predominant band.



A mixed cell reaction is characterized by a band of red cell agglutinates on top of the gel, accompanied by a pellet of unagglutinated cells at the bottom of the microtube.

## Anexo V

**Tabla 3.**  
**Antígenos para tipificación de anticuerpos irregulares, por medio del método de aglutinación en gel y panel**  
**De once células**

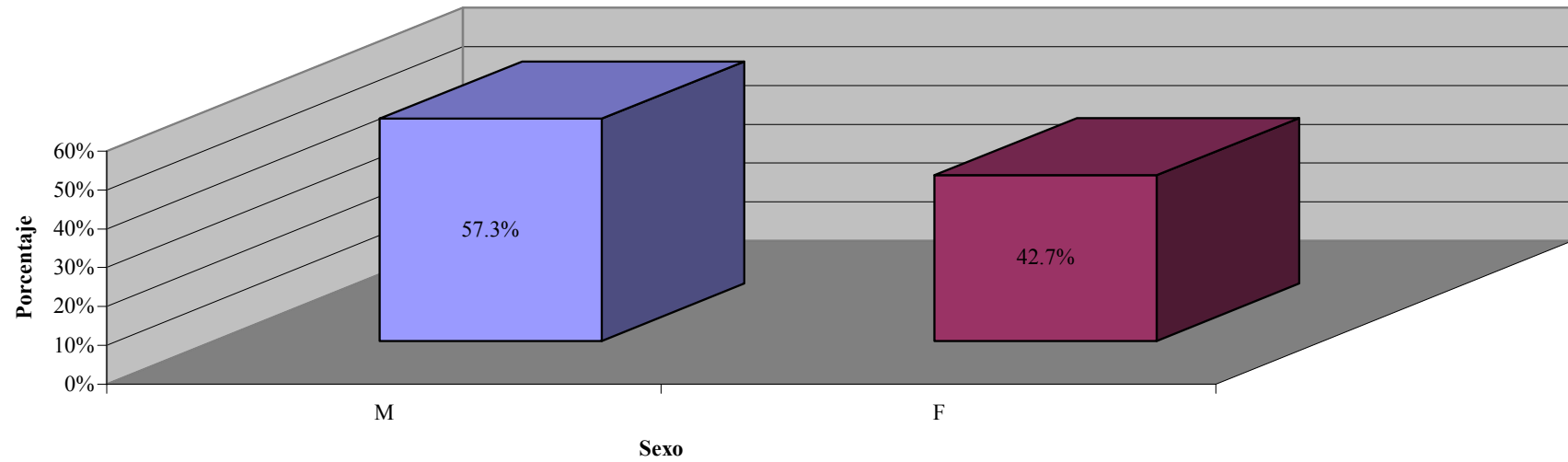
Tipo de célula	Rh-hr						Kell						Duffy		Kidd		Lewis		P	MNS					Luth		Xg		Resultados mx.
	D	C	E	c	e	c <sup>w</sup>	K	k	Kp <sup>a</sup>	Kp <sup>b</sup>	Js <sup>a</sup>	Js <sup>b</sup>	Fy <sup>a</sup>	Fy <sup>b</sup>	Jk <sup>b</sup>	Jk <sup>b</sup>	Le <sup>a</sup>	Le <sup>b</sup>	P <sub>1</sub>	M	N	S	s	Lu <sup>a</sup>	Lu <sup>b</sup>	Xg <sub>a</sub>	♀ ♂		
1	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	0	+	+	0	+	0	0	+	+	+	+	
2	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	
3	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	+	0	0	0	0	+	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	
4	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	+	+	0	+	+	+	+	
5	0	+	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	+	+	0	0	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	
6	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	0	+	+	0	0	0	0	+	0	+	+	+	+	0	+	0	0	0	
7	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	0	+	+	0	+	0	0	+	0	0	0	
8	+	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	0	+	+	0	0	0	+	0	0	+	+	+	0	0	0	
9	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	+	0	+	0	+	+	+	+	
10	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	
11	0	0	0	+	+	0	0	+	+	+	0	+	+	0	0	0	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	0	0	

Nota: en la tabla ya aparecen los resultados que reflejan el comportamiento de cada anticuerpo frente a las once células del panel.

Fuente: Miller, D. Technical Manual. 2,005 (102).

Anexo VI

**GRÁFICO 1.**  
**DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL POR GÉNERO DE LOS PACIENTES MUESTREADOS QUE**  
**PRESENTARON ANTICUERPOS IRREGULARES, EN LOS MESES DE JULIO A SEPTIEMBRE DE 2,007**



Fuente: Datos experimentales, banco de sangre del Hospital General San Juan

M = Masculino, F = Femenino

