

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA, MANAGUA  
INSTITUTO POLITÉCNICO DE LA SALUD  
LUIS FELIPE MONCADA  
UNAN-MANAGUA



Departamento de Bioanálisis Clínico  
Seminario de Graduación para optar al título de Licenciatura en Bioanálisis Clínico

Tema:

## **MEDICINA TRANSFUSIONAL**

Sub Tema:

## **IMPORTANCIA DE ANTICUERPOS IRREGULARES EN MEDICINA TRANSFUSIONAL**

AUTORES:

- ❖ Bra. ZENELIA DEL SOCORRO PERALTA MARTÍNEZ
- ❖ Br. CÉSAR AUGUSTO ESTRADA DÍAZ
- ❖ Bra. YUBELKIS TATIANA GONZÁLEZ HERNÁNDEZ

TUTORA:

- ❖ María Elena Dávila Narváez  
Lic. Bioanálisis Clínico  
Msc. Epidemiología

Managua, Nicaragua. Febrero 26 del 2015

## INDICE

Dedicatoria	.....	<i>i</i>
Agradecimiento	.....	<i>ii</i>
Valoración del Docente	.....	<i>iii</i>
Resumen	.....	<i>iv</i>
	<b>Capítulo</b>	<b>Páginas</b>
I.	Introducción .....	1
II.	Justificación .....	3
III.	Objetivos .....	4
IV.	Desarrollo del Subtema.....	5
	4.1. Generalidades de los Anticuerpos .....	5
	4.2. Sistemas de Grupos Sanguíneos .....	10
	4.3. Anticuerpos del Sistema HLA .....	16
	4.4. Reacciones causadas por Anticuerpos Irregulares .....	17
	4.5. Métodos para la detección e identificación de Anticuerpos Irregulares .....	30
	4.6. Frecuencia de anticuerpos irregulares .....	45
V.	Diseño metodológico .....	56
VI.	Conclusiones .....	59
VII.	Bibliografía .....	60
VIII.	Anexos .....	63

## DEDICATORIA

Dedicamos este trabajo:

Principalmente a **Dios**, quien es nuestro mayor guía y fortaleza en cada momento de nuestras vidas.

A nuestros **Padres** por cada uno de sus esfuerzos, amor y apoyo incondicional, durante nuestra formación tanto personal como profesional.

A nuestra **tutora**, Msc. María Elena Dávila Narváez por brindarnos su guía y sabiduría en el desarrollo de este trabajo.

A las **personas** que confiaron en nuestros conocimientos para la realización y culminación de este trabajo.

 *Zenelia del Socorro Peralta Martínez*

 *César Augusto Estrada Díaz*

 *Yubelkis Tatiana González Hernández*

## **AGRADECIMIENTO**

En primer lugar le damos gracias a Dios por habernos dado el tiempo necesario para realizar este trabajo, por haber conocido a muchas personas que colaboraron con nosotros para hacer nuestro sueño realidad y porque en todo momento estuvo con nosotros.

A nuestras familias por apoyarnos sin condición, por su confianza, amor y comprensión incondicional.

A nuestra tutora Msc. María Elena Dávila Narvárez a quien hemos considerado una persona muy profesional, pero sobretodo de quien admiramos su inteligencia y gran calidad humana.

Al Lic. Ramón Medrano Chávez por su tiempo y dedicación brindada para la colecta de información y culminación de este Seminario.

A cada profesor que nos enseñó y motivó a luchar para ser excelentes profesionales y al Instituto Politécnico de la Salud (POLISAL-UNAN-MANAGUA), por permitirnos culminar nuestros estudios.

## VALORACIÓN DEL DOCENTE

En la medicina transfusional, es importante determinar la frecuencia y especificidad de los anticuerpos irregulares, debido a la importancia clínica y al manejo del proceso transfusional que tienen en la terapéutica transfusional. La terapéutica basada en los componentes sanguíneos puede ser de gran valor para mantener o salvar una vida, no obstante pueden producirse efectos indeseados o reacciones transfusionales, que pueden poner en riesgo la vida de los pacientes receptores de los hemocomponentes que recibe. Por lo tanto, es indispensable investigar anticuerpos de significación clínica capaces de provocar una respuesta inmune seleccionando métodos sensibles con la capacidad de identificar eficazmente anticuerpos que provocan aloinmunización.

Con el presente estudio los autores brindan una información actualizada que enriquecerá el acervo bibliográfico sobre el tema, ofreciendo al lector una ilustración clara de fácil comprensión sobre cada uno de los aspectos que se han desarrollado en relación a los anticuerpos irregulares, incluyendo datos que reflejan la frecuencia de éstos en el país.

Por lo cual considero que este trabajo de tipo documental con el Tema: “**Medicina Transfusional**” y Subtema: “**Importancia de Anticuerpos Irregulares en Medicina Transfusional**”, reúne todos los requerimientos científicos y metodológicos para ser presentado y defendido por sus autores.

---

Msc. Ma. Elena Dávila Narvárez  
Tutora  
Docente Dpto. Bioanálisis Clínico  
POLISAL-UNAN-MANAGUA

## RESUMEN

Esta investigación tuvo como objetivo principal: Determinar la importancia clínica de los anticuerpos irregulares en Medicina Transfusional. La detección de anticuerpos irregulares juega un papel fundamental en la Medicina Transfusional. Es un proceso clave en las pruebas de compatibilidad pre-transfusión y de igual manera es imprescindible para el diagnóstico y pronóstico de otros procesos de tipo inmune como la Enfermedad Hemolítica Perinatal (EHPN). El diseño metodológico de esta investigación se basó en un estudio de tipo documental descriptivo y la información se recolectó de fuente secundaria utilizando técnicas de recolección como fichas, preguntas directrices y análisis de la información. En conclusión se considera que: Los anticuerpos clínicamente significativos son capaces de iniciar la destrucción acelerada de los eritrocitos portadores del antígeno. Tienen especificidades asociadas con: EHFN, RHPT, Acortamiento de la supervivencia de los GR transfundidos y AHAI. Los anticuerpos irregulares clínicamente significativos son de tipo IgG, principalmente los Rh (anti-D, anti-E, anti-c, anti-C, anti-Cw y otros). Las reacciones causadas por anticuerpos irregulares suelen ser Reacciones inmunes. Pueden ir de leves a severas. Las Reacciones hemolíticas son de dos tipos intravascular y extravascular. Los métodos para la detección e identificación de anticuerpos irregulares son: Método de Adsorción, Elución y Titulación, combinados adsorción-elución. Se emplean Técnicas en salina, albúmina, LISS, Coombs, enzimáticas y de potenciación La frecuencia de anticuerpos irregulares fue: anti-D 42.4%, anti-E 15.2%, anti-K 10.5%, anticuerpos indeterminados 8%, anti-C 6%, anti-M 5%, anti-c, anti-Duffy (a) y anti-P 3.5% cada uno y anti-Lea 2.4%. Los anticuerpos calientes tuvieron una frecuencia del 69% y los anticuerpos fríos 9%. El sexo femenino fue el más predominante con 71% y el sexo masculino 29%. El grupo etario de 37-46 años tuvo el mayor porcentaje 34%. La distribución de los grupos sanguíneos fue: grupo O Positivo 36.5%, O Negativo 34%, A Negativo 12%, A Positivo 10.6%, B Positivo 3.5%, B Negativo 2.4%, AB Positivo 1% y AB Negativo 0%.

## I. INTRODUCCIÓN

La Medicina Transfusional es una herramienta muy importante en todas las áreas de la medicina, tiene por objeto la conservación y el restablecimiento de la salud apoyada en la terapéutica transfusional. La terapéutica transfusional puede ser de gran valor para mantener o salvar una vida. La Medicina Transfusional también depende de laboratorios cada vez más sofisticados para minimizar los riesgos de transmisión de enfermedades y de maximizar la compatibilidad de las células y los tejidos, como también establecer las causas de la aparición o falta de reacciones inmunológicas adversas. El laboratorio clínico funciona como un servicio de apoyo muy importante en la Medicina Transfusional para la terapéutica, por lo que se ha desarrollado el área de Inmunohematología cuyo valor radica en la identificación de los anticuerpos irregulares derivados de los procesos de inmunización, sean transfusionales, por embarazos o de naturaleza autoinmune.

Los anticuerpos irregulares son anticuerpos dirigidos contra algún antígeno del eritrocito que no está presente en los eritrocitos del receptor que se genera en respuesta a la exposición del receptor a esta proteína. La detección de anticuerpos irregulares juega un papel fundamental en la Medicina Transfusional. Es un proceso clave en las pruebas de compatibilidad pre-transfusión y de igual manera es imprescindible para el diagnóstico y pronóstico de otros procesos de tipo inmune como la Enfermedad Hemolítica Perinatal (EHPN). El objetivo de los métodos de detección es el hallazgo de los anticuerpos irregulares o inesperados presentes en 0.2 - 2 % de la población general. (Bastos F., s. f.)

Los antígenos de los Sistemas de Grupos Sanguíneos pueden ser reconocidos por el sistema inmune de los individuos que carecen de ellos, dando origen a los anticuerpos antieritrocitarios. Estos generalmente aparecen después de una transfusión de productos sanguíneos o en alguna etapa del embarazo, y su importancia radica en su capacidad de provocar reacciones post-transfusionales y

Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido (EHRN). La incidencia de estos anticuerpos es variable, de acuerdo al grupo de pacientes y a la sensibilidad del método de estudio. Es importante determinar su frecuencia y especificidad, debido a su importancia clínica y al manejo del proceso transfusional tanto en el laboratorio como junto al paciente.

Es conocido a nivel mundial que de acuerdo a las normas establecidas en los “Estándares para donantes de sangre de la Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud (OPS/OMS)”, se deben realizar pruebas clínicas y de laboratorio antes de donar y después de obtener la donación de sangre. Estas tienen como objetivo principal asegurar que la donación de sangre no sea perjudicial para el donante y que los productos sanguíneos obtenidos de esta donación no produzcan efectos desfavorables en los posibles receptores. (OPS, 2005)

La correcta tipificación sanguínea y la detección de aloanticuerpos a nivel de los donantes de sangre constituyen una parte crucial del proceso de obtención de derivados que tienen como propósito garantizar que la transfusión cumpla con sus objetivos terapéuticos, sin provocar efectos indeseados o reacciones transfusionales, las cuales podrían poner en riesgo la vida de los pacientes receptores de estos derivados.

Por otro lado, desde la introducción de profilaxis anti-Rh para embarazadas Rh negativas, otros anticuerpos diferentes han cobrado importancia relativa y son ahora responsables de una mayor proporción de enfermedad hemolítica perinatal. Entre los anticuerpos irregulares, el Kell, E y c son los más comúnmente implicados. Dada la importancia reciente, comparada con la isoimmunización anti-D, existe poca información actualizada en la literatura. (Almuna R. y Carvajal R., 2009)

## **II. JUSTIFICACION**

Es importante establecer el escrutinio de anticuerpos irregulares en los Bancos de Sangre que permita determinar el tipo de aloanticuerpo circulante y su significancia clínica. Adicionalmente se establece la necesidad de detección de fenotipos eritrocitarios que complementen los análisis y la elección de derivados sanguíneos compatibles. Evitando una aloinmunización por anticuerpos irregulares que pueden provocar reacciones post transfusionales y EHRN.

Por tal razón, es importante investigar sobre esta temática de suma importancia en la terapéutica transfusional. Con el presente trabajo se pretende aportar conocimientos sobre: la importancia clínica que tiene la identificación de anticuerpos irregulares en Medicina Transfusional, las reacciones por aloinmunización post-transfusional y EHRN. Asimismo, conocer los métodos para la identificación de anticuerpos irregulares, para brindar una transfusión de componentes sanguíneos con el menor riesgo posible para el receptor.

Esta investigación servirá como fuente bibliográfica y punto de partida para otras investigaciones afines a la medicina, brindará amplios conocimientos para el enriquecimiento de los estudiantes de la carrera y carreras a fines. De igual manera, los resultados de esta investigación beneficiarán al personal médico y técnico del Banco de Sangre con la descripción de las medidas necesarias pertinentes al detectar anticuerpos irregulares en el suero del receptor.

### **III. OBJETIVOS**

#### **Objetivo General**

- Determinar la importancia clínica de los anticuerpos irregulares en Medicina Transfusional.

#### **Objetivos Específicos**

1. Detallar los anticuerpos irregulares clínicamente significativos en Medicina Transfusional.
2. Especificar las reacciones causadas por anticuerpos irregulares en la terapia transfusional.
3. Describir los métodos para la detección e identificación de anticuerpos irregulares.
4. Establecer la frecuencia de anticuerpos irregulares que han sido detectados en el Centro Nacional de Sangre de Managua, Nicaragua.

## IV. DESARROLLO DEL SUBTEMA

### 4.1. Generalidades de los anticuerpos.

Anticuerpo: es una proteína producida por las células plasmáticas por estimulación de un antígeno, también es conocido como inmunoglobulina, su función es la destrucción de los antígenos de forma directa. Existen cinco tipos de anticuerpos o inmunoglobulinas con funciones específicas: IgG; IgM, IgE, IgA e IgD. Sin embargo, los anticuerpos de los sistemas grupos sanguíneos generalmente son de tipo IgG e IgM. (Ver en Anexos Figura 1)

- **Anticuerpos naturales:** son aquellos que están presentes en el suero de una persona sin contacto previo con el antígeno, el ejemplo más común son los anticuerpos del sistema ABO. Este tipo de anticuerpos son IgM en su mayoría y no atraviesan la placenta.
- **Anticuerpos irregulares/ Aloanticuerpos o Anticuerpos antieritrocitarios:** este tipo de anticuerpos son producidos a través de una inmunización previa y que son causa de reacción pos-transfusional, aquellos que son considerados de importancia clínica reaccionan a 37°C.

En Medicina Transfusional se han clasificado los anticuerpos contra antígenos sanguíneos en:

- 1) Anticuerpos contra aloantígenos: llamados de esta manera porque se producen anticuerpos ante el estímulo de antígenos presentes en eritrocitos, leucocitos y plaquetas.
- 2) Anticuerpos contra antígenos del individuo: son los denominados autoanticuerpos que generalmente desencadenan enfermedades autoinmunes como la anemia hemolítica autoinmune.

3) Aloanticuerpos o anticuerpos antieritrocitarios: que son anticuerpos adquiridos y se dividen en: *regulares naturales*: producen contra el sistema ABO; *irregulares naturales*: anti-A<sub>1</sub>; anti-M; anti-N; anti-P<sub>1</sub>; anti-E entre otros; *irregulares adquiridos o inmunes*: anti-sistema RH (anti-D, anti-c, anti-C, y otros), anti-Kell y anti-Duffy. (Alcaraz -López J., 2005).

- **Anticuerpos irregulares o inesperados**

a) Aloanticuerpos de ocurrencia Natural: en respuesta a estímulos ambientales como el Polen, Hongos y Bacterias.

b) Aloanticuerpos Inmunes: en respuesta al estímulo con glóbulos rojos, por Transfusión, Embarazo y Trasplante. (Bastos F., s. f.)

**Cuadro 1. Origen de anticuerpos inmunes**

Antecedentes	Porcentaje de individuos sensibilizados
Femenino solo embarazada	1%
Femenino solo embarazada y transfundida	2.8%
Masculino y Femenino solo transfundido	1.4%
Masculino y Femenino sin antecedentes	0,4%

Fuente: Bastos F., s. f.

- **Anticuerpos según temperatura de reacción**

1) Anticuerpos fríos: llamados de esa manera debido a que su temperatura de reacción es de 22°C y generalmente son de tipo IgM, considerados por estas características de poca significancia clínica. Sin embargo estos anticuerpos pueden producir también reacciones hemolíticas e interferir en la determinación de los grupos sanguíneos y pruebas cruzadas

2) Anticuerpos calientes: estos anticuerpos reaccionan a 37°C y son de tipo IgG por lo que tienen importancia clínica y están relacionados directamente con reacciones transfusionales y la enfermedad hemolítica del recién nacido (Luna J, 2005).

Los anticuerpos clínicamente significativos son capaces de iniciar la destrucción acelerada de los glóbulos rojos portadores del antígeno. La International Society Blood Transfusion (ISBT), clasifica más de 300 antígenos y 30 sistemas de grupos sanguíneos. Los anticuerpos irregulares de éstos tienen especificidades asociadas con: Enfermedad Hemolítica Feto Neonatal (EHFN), Reacción Hemolítica Post Transfusional (RHPT), Acortamiento de la supervivencia de los GR transfundidos y Anemia Hemolítica Auto Inmune (AHAI). (Bastos F., s. f.)



Se debe considerar que la incidencia de anticuerpos irregulares es variable, puede ser mínima en donantes que no han sido expuestos a transfusiones o a un embarazo y elevada en quienes si han tenido exposiciones previas o factores de riesgo. También depende de las características demográficas de la población así por ejemplo, en la raza negra existe predominancia del antígeno Duffy y carecen de anticuerpos contra este sistema.

Se ha considerado que el embarazo provoca una menor estimulación para la producción de anticuerpos irregulares que las transfusiones sanguíneas debido a tres factores: número de antígenos extraños del padre, el volumen de transferencia de glóbulos fetales y antígenos eritrocitarios considerados de baja frecuencia. En cambio en las transfusiones hay más posibilidad de recibir productos sanguíneos de diferentes personas y por ende un mayor número de estímulos.

Es común que en cada uno de los sistemas eritrocitarios pueda haber 2 o más fenotipos. Un individuo con un determinado grupo sanguíneo es capaz de reconocer los eritrocitos que posean antígenos de un grupo sanguíneo alogénico (ajeno) y producir anticuerpos contra ellos. Estos aloanticuerpos no sólo causan una destrucción prematura de los eritrocitos transfundidos que tienen antígenos extraños, sino que en algunos casos pueden producir reacciones post transfusiones potencialmente letales.

#### **4.1.1. Factores que determinan la importancia clínica de los anticuerpos.**

- Especificidad del anticuerpo.
- La concentración y la avidéz de los anticuerpos.
- Rango térmico.
- Clase y subclase de inmunoglobulina.
- Actividad del sistema mononuclear fagocítico.
- Movilidad y densidad de sitios antigénicos en la membrana.
- Volumen de glóbulos rojos administrados.
- Presencia de sustancias solubles del grupo sanguíneo.
- Algunas especificidades tienen un comportamiento variable.
- No siempre podemos distinguir entre un Ac clínicamente significativo y uno benigno.
- No contamos con información inequívoca del comportamiento de algunas especificidades poco comunes.

- A veces no podemos precisar la especificidad de un Ac determinado. (Bastos F., s. f.)

**Cuadro 2. Importancia clínica de los anticuerpos**

Clinicamente significativos	Significativos si reaccionan a 37°C	Significativos algunas veces	Clinicamente benignos
ABO	Lea	Yt <sup>a</sup>	Chido/Rodgers
Rh	M, N	G	JMH
Kell	P1	Gy <sup>a</sup>	Knops
Duffy	Lutheran	Hy	Bg
Kidd	A1	At <sup>a</sup>	Xg
SsU	Sda	Colton	Csa
Vel	AnWj	Cromer	Yk <sup>a</sup>
PP1Pk		Dombrock	McC <sup>a</sup>
H (Oh)		Indian	
		Jra	
		Lan	
		LW	
		Scianna	

Fuente: Bastos F., s. f.

**Anticuerpos poco comunes**

- Conocer la etnia del paciente
- Conocer la historia clínica del paciente
- Conocer hallazgos serológicos previos
- Conocer medios óptimos de reacción, temperatura, etc

### **Especificidades relacionadas con la etnia**

- En un paciente de raza blanca, los Ac contra Ag de alta frecuencia se dirigen con mayor frecuencia contra: k, Kpb, Yta, Vel, Coa y Lub.
- En individuos de raza negra los fenotipos S-s-U-Js(b-) y otros son exclusivos, y los fenotipos Fy(a-b-), Le(a-b-), Cr(a-) y Lu(b-) son más comunes.
- El fenotipo In(b-) es exclusivo de la raza asiática, y los fenotipos Gy(a-), Jr(a-) y Di(a+b-) son mucho más frecuentes.
- En Latinoamericanos: Di(a+b-), Ge:-2,3 y Ge:-2,-3.
- En el este de Europa es más común el fenotipo Gy(a-). (Bastos F., s. f.)

## **4.2. Sistemas de Grupos Sanguíneos.**

Un sistema de grupo sanguíneo consiste en un locus génico que codifica un antígeno de la superficie de las células sanguíneas (generalmente de los eritrocitos). Según International Society Blood Transfusion Barcelona (ISTB), en la actualidad se descubrieron más de 300 antígenos en los eritrocitos y se han identificado y agrupado en 26 sistemas de acuerdo a varias características bioquímicas, fisicoquímicas y su codificación genética.

Se han descrito varios cientos de antígenos diferentes de grupo sanguíneo; la distribución de cada uno de ellos varía en las poblaciones humanas. Así, una unidad de sangre contiene eritrocitos que expresan una gran variedad de aloantígenos, cada uno puede potencialmente inducir una respuesta de anticuerpos.

### **4.2.1. Sistema ABO**

Karl Landsteiner en 1901, descubre tres tipos de antígenos a nivel de los eritrocitos denominándolos O, A y B. En 1903, Alfredo de Castello y Adriano Sturli descubrieron el cuarto grupo, denominándolo AB, estos distintos tipos de antígenos eritrocitarios son los que hasta la actualidad definen al grupo sanguíneo ABO. Los anticuerpos frente a los antígenos ABO son muy frecuentes,

es por esta razón que resulta indispensable la verificación de los grupos sanguíneos del donante y del receptor antes de llevar a cabo una transfusión sanguínea. Estos anticuerpos son de tipo IgM que fijan el complemento razón por la cual están involucrados en reacciones pos-transfusionales hemolíticas. En la actualidad se conocen cuatro grupos sanguíneos con sus respectivos antígenos y anticuerpos. (Ver en Anexos Figura 2)

#### **4.2.2. Sistema Rhesus**

En 1927 Levine y Stetson descubrieron los antígenos y anticuerpos del sistema Rh. Levine en 1939, fue el primero en detectar la existencia de un nuevo antígeno en la membrana de los hematíes que tenía como característica el aglutinar el 85% de las sangres humanas. Levine descubre que una mujer embarazada forma anticuerpos contra un antígeno eritrocitario de su hijo, el Rh (D). Es así como se descubre la existencia de aloanticuerpos.

Posteriormente Landsteiner y Wiener en 1940, a través de experimentos de inmunización entre hematíes de conejos con hematíes de monos (*Macacus Rhesus*), observaron que al inyectar hematíes humanos a estos simios, producían un anticuerpo que era capaz de aglutinar los hematíes del 85% de la población, las personas cuyos hematíes aglutinaban con el suero anti-Rhesus fueron denominados Rh positivos ya que tienen antígeno D en la superficie y el 15% restante, Rh-negativos, refiriéndose a la ausencia del antígeno "D" en los hematíes. (Red distrital de Bancos de Sangre y Servicios de Transfusión Sanguínea, 2007). (Ver en Anexos Figura 3)

El grupo Rh constituye uno de los sistemas más complejos y está formado por unos 55 antígenos de los cuales se identifican habitualmente cinco: D, C, c, E, y e cuyas denominaciones varían en función de la nomenclatura elegida (ISBT, Fisher-Race, Wiener). Para determinar la presencia de los fenotipos del sistema Rh se utilizan reactivos que permiten identificar esos cinco antígenos principales de tal manera que se puede establecer los genotipos existentes.

En Medicina Transfusional, los D son los antígenos eritrocitarios más importantes después de los A y B. No obstante, las personas que carecen de antígenos D no siempre producen los anticuerpos correspondientes. La formación de anti-D suele resultar de la exposición a glóbulos rojos con antígenos D durante una transfusión o gestación. Los D son más inmunogénicos que los demás antígenos eritrocitarios, se estima que entre el 30 y 85 % de las personas D negativas que reciben una transfusión D positiva desarrolla anti-D. Para evitarlo se evalúan los antígenos D de la sangre de todos los receptores y donantes para asegurar que todos los receptores D negativo reciban sangre D negativo. (AABB, 2007).

### **Características del Antígeno D**

- ▶ 10.000 a 40.000 sitios D
- ▶ Ag de maduración eritroide
- ▶ Polipéptidos membranales hidrófobos (28-32 Kda)
- ▶ No están glicosilados ni fosforilados
- ▶ Poseen residuos palmitilados y acilados
- ▶ Asociados al citoesqueleto
- ▶ Marcadores de línea celular

### **• Anticuerpos del sistema Rh**

Son anticuerpos de tipo inmune debido que para su formación se requiere una exposición previa al antígeno correspondiente ya sea por transfusiones o embarazo. Su importancia clínica radica en la gravedad de las reacciones postransfusionales y la enfermedad hemolítica del recién nacido (Aguilar Ligorit, 2004).

Todos los anticuerpos del Sistema Rh provienen de una alo-inmunización por embarazo o transfusión. Son Aloanticuerpos. Este sistema no posee anticuerpos naturales, son de clase IgG (IgG1 ó IgG3) no aglutinantes en salino (enzimas, TCI)

y no fijan complemento. El embarazo y la transfusión de sangre producen la mayor parte de los anticuerpos Rh como resultado a la exposición a eritrocitos humanos.

Ocasionalmente los anticuerpos Rh (por ejemplo anti-E y anti-C<sup>w</sup>) se producen en forma natural. El antígeno D es el inmunogénico más potente, seguido del c y el E. Es común encontrar anticuerpos anti-C asociados a los anti-D y puede deberse a que comparten estructuras de membrana, lo mismo ocurre con anti-e y anti-E.

#### **4.2.3. Sistema Kell.**

El sistema Kell está formado por 21 antígenos, varios de los cuales forman pares considerados de alta y baja incidencia a nivel de las poblaciones, presentando fenotipos, genotipos y sus correspondientes anticuerpos. Los principales son dos antígenos descubiertos en 1946 por Coombs, Mourant y Race: el denominado Kell (K) y el Cellano (k). Levine y colaboradores, encontraron el alelo respectivo, denominado Cellano (k).

En 1957 Allen y Lewis describieron los antígenos Kpa y Kpb, en 1958 se describió el Jsa y en 1963 el Jsb. Este sistema también presenta un fenotipo nulo, llamado Kellnull (K0), descrito en 1957 por Chown y por último el fenotipo McLeod, descrito en 1961 por Allen y colaboradores. Ambos antígenos son muy inmunogénicos y cuando una persona de fenotipo K- es transfundido con una unidad de sangre K+ la probabilidad de desarrollar un anti-K puede ser mayor al 10%.

La expresión de la proteína que forma parte de los antígenos Kell se expresa en la maduración de los eritrocitos, esto le permite en ocasiones la producción de anticuerpos anti-Kell que inhiben la eritropoyesis y pueden ocasionar una anemia aplásica. El aloanticuerpo anti-K es de clase IgG1 en ocasiones fijan el complemento ocasionando reacciones hemolíticas, es considerado común en las poblaciones europeas. Los aloanticuerpos anti-kpb y anti-Jsb son poco frecuentes pero suelen estar involucrados en reacciones postransfusionales y en enfermedad hemolítica del recién nacido.

Los antígenos más importantes de este sistema son: K, k, Kpa, Kpb, Kpc, Jsa y Jsb. Todos de importancia clínica. El anti- k fue encontrado por primera vez en una mujer cuyo bebe desarrollo EHFN. Tiene las mismas características del anti-K.

#### **4.2.4. Sistema Duffy**

Los antígenos eritrocitarios de este sistema pueden ser detectados a las siete semanas de nacido, son considerados moderadamente inmunogénicos. Los antígenos fenotípicos Fya, Fyb son los más frecuentes del sistema y son receptores del Plasmodium vivax y Plasmodium knowlesi por lo que las personas que tienen el fenotipo Fy a-b- (nulo) son inmunes a las infecciones de P.vivax. El fenotipo Fy(a+b+) está presente en 49% de la población blanca, el Fy(a+b-) en el 90.8% de la población china y Fy(a-b-) en el 68% de la población negra.

Los anticuerpos que se producen son poco comunes, el anti-Fya es más común que el anti-Fyb son predominantemente del tipo IgG y están relacionados con reacciones postransfusionales de tipo hemolítico inmediato y tardías. Anti-Fy3 y anti-Fy5 son producidos en individuos Fy(a-b-) y especialmente en pacientes multitransfundidos de raza negra, la diferencia entre los dos aloanticuerpos es que el primero produce reacciones transfusionales inmediatas y tardías y el segundo únicamente reacciones tardías (Klein H, 2005).

#### **4.2.5. Sistema Kidd**

El Sistema Kidd: Puede ocasionar EHFN y reacciones transfusionales hemolíticas. Este sistema se compone de tres alelos Jka, Jkb, Jk. Aproximadamente un 76 % de la raza blanca posee un antígeno Jka; el 26 % genotipo Jka , Jkb, fenotipo Jk (a+b-), el 50 % Jka , Jkb , fenotipo (a+b+) y el 24 % genotipo Jkb fenotipo Jk (a-b+). El grupo de los anticuerpos Kidd están relacionados con reacciones hemolíticas postransfusionales, especialmente anti-Jka como el anti-Jkb. La detección de estos anticuerpos se realiza con células pantalla, sin embargo suelen ser inestables incluso congelados El anticuerpo considerado de significancia clínica constituye el anti-Jka que fue descubierto en 1951 en el suero de una mujer

que dio a luz a un niño con enfermedad hemolítica del recién nacido. EL anti-Jkb es menos frecuente pero puede aparecer en sueros que contengan otros anticuerpos, sin embargo no produce reacciones hemolíticas.

#### **4.2.6. Sistema Lewis**

Este sistema posee dos alelos (Le y le) que fueron descubiertos en 1948 por Andersen, compuestos por dos genes Lea y Leb. Estos antígenos son absorbidos a la membrana de los eritrocitos desde el plasma y saliva donde se encuentran mayoritariamente, son de tipo IgM y fijan el complemento. El anti-Lea es un anticuerpo natural común en el suero de personas Le(a- b-). No son clínicamente significativos pero se han descrito raros casos que tiene actividad a 37° C. Sin embargo ante la presencia de anti-Lewis de tipo Lea y Leb deben transfundirse sangre compatible, es decir que estén ausentes los antígenos correspondientes. No están relacionados con la enfermedad hemolítica del recién nacido.

#### **4.2.7. Sistema Lutheran**

Se compone de dos genes alelomorfos Lua y Lub; un 8 % de los blancos ingleses son positivos a los genotipos Lua y Lua y Lua y Lub y el 92% son negativos Lub y Lub; en cambio a nivel de la población de Estados Unidos son Lutheran positivos en un 19.1%. Son antigénicamente activos y muchas veces responsables de reacciones hemolíticas, Uno de los anticuerpos de estos antígenos considerados de alta frecuencia es el anti-Lua considerado poco frecuente y sin significancia clínica. En contraste, el anti-Lub está relacionado estrechamente con hemólisis intravascular.

#### **4.2.8. Sistema MNSs**

Este sistema fue descubierto en 1927 por Landsteiner y Levine, los alelos de este sistema dan lugar a tres genotipos, MM, MN, NN las frecuencias en la raza blanca son de 28, 50 y 22% respectivamente, los fenotipos son M, MN y N. Los antígeno MN son codominantes y están estrechamente ligados a los S y s a nivel del cromosoma número 4. (Oliveria M, Gatti L, 2006). El anti-M se caracteriza por ser

un anticuerpo frío de clase IgM, pero puede tener asociaciones con IgG. Este anticuerpo no tiene gran importancia transfusional. En cambio el anticuerpo, anti-N es aún más raro y puede ser observado en pacientes sometidos a hemodiálisis.

La explicación radica en que la membrana de los eritrocitos sufren daños mecánicos al contacto con la membrana de diálisis que posee formaldehído y este cambio en la membrana induce a la respuesta autoinmune por parte del paciente. Los anticuerpos anti-S y anti-s se producen generalmente luego de una inmunización eritrocitaria que puede deberse a embarazo o transfusiones previas, son de tipo IgG por lo que están relacionados con reacciones postransfusionales retardadas y enfermedad hemolítica del recién nacido.

#### **4.2.9. Sistema P**

Los antígenos de este sistema están bioquímicamente relacionados a los grupos ABO. Son antígenos débilmente inmunogénicos por lo que tiene escaso interés transfusional. Está formado por los antígenos P<sub>1</sub>, P, P<sub>k</sub> y el producto del gen silencioso "p". Los anticuerpos frente a antígenos del sistema P son en general aloanticuerpos, casi siempre naturales de tipo IgM activos a bajas temperaturas, sin embargo pueden reaccionar a 37°C.

El anticuerpo producido por los individuos con fenotipo "p" (anti-P, anti-P<sub>1</sub>, anti-P<sub>k</sub>) también conocido como "anti-Tja", son anticuerpos de origen IgG, hemolítico y muy peligroso en transfusión sanguínea es causante de abortos espontáneos precoces en mujeres portadoras de dicho anticuerpo. Dentro de este sistema se encuentra el autoanticuerpo anti-P responsable de la hemolisina bifásica de Donath-Landsteiner, causante de la hemoglobinuria paroxística a frigore.

#### **4.3. Anticuerpos del Sistema Antígeno Leucocitario Humano (HLA)**

La aloinmunización o presencia de anticuerpos anti-HLA se presenta generalmente en personas que han recibido transfusiones o en las que han tenido un trasplante, por lo que han sido estimulados por los antígenos del MHC del

donante o en las mujeres que han estado embarazadas y que han sido aloinmunizadas por leucocitos fetales que han pasado transplacentariamente a la madre.

Estos anticuerpos son, por ello, de origen inmune del tipo inmunoglobulina G (IgG) con propiedades citotóxicas y leucoaglutinantes. La existencia de estos anticuerpos «preformados», en el paciente que está sujeto a recibir un órgano o transfusión de otro individuo, puede favorecer que el rechazo del órgano o reacción adversa de la transfusión ocurra en el plazo inmediato o mediano, por lo que el detectarlos de manera previa al acto quirúrgico del trasplante o a la transfusión en pacientes altamente aloinmunizados coadyuva al éxito del mismo.

De igual manera, la determinación de anticuerpos anti-HLA es una prueba que en los países más desarrollados se utiliza de manera cotidiana en la evaluación periódica de los pacientes multitransfundidos o inscritos en listas de espera de órganos provenientes de donadores fallecidos, y su importancia es tal, que dicha prueba es considerada como un parámetro importante en la asignación de los órganos, ya que permite establecer criterios de idoneidad con respecto a las posibilidades de éxito del trasplante basadas en conocer si el paciente presenta en su suero anticuerpos que favorezcan el rechazo.

#### **4.4. Reacciones causadas por Anticuerpos Irregulares**

La transfusión puede salvar vidas pero una utilización inadecuada por una indicación poco clara puede causar consecuencias reversibles o irreversibles (reacciones transfusionales). Las reacciones transfusionales pueden ir de leves a severas, hay que ser cautelosos en su manejo, una identificación rápida y un tratamiento oportuno es de gran utilidad para a evitar consecuencias que sean irreversibles en el paciente. (Reacciones transfusionales, s. f.)

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: reacciones inmunes y no inmunes (Rosales B, 2008).

#### **4.4.1. Reacciones inmunes**

**Aloinmunización:** constituye la producción de aloanticuerpos o anticuerpos irregulares contra antígenos de los eritrocitos estimulados durante una transfusión o embarazo (OPS, 2005).

Con la transfusión se recibe una carga cerca de 400 antígenos diferentes del glóbulo rojo, de los cuales el paciente no va a tener algunos, por lo tanto, existe una menor posibilidad de que no se aloinmunice, porque no aparece una mayor cantidad de anticuerpos como respuesta a cada transfusión. Pero, la frecuencia de la aloinmunización depende del grupo que se esté estudiando. La frecuencia de la aloinmunización varía tanto con el antígeno en cuestión como la genética subyacente y la fisiopatología del receptor.

##### **► Factores que contribuyen a la aloinmunización**

En general, para que un paciente forme un aloanticuerpo contra un aloantígeno de eritrocitos se requiere que:

- 1) el receptor sea genéticamente negativo para el antígeno.
- 2) los eritrocitos transfundidos porten el antígeno extraño.
- 3) el receptor tengan moléculas MHC de clase II capaces de presentar el péptido con variantes de aminoácidos presentes solo en los eritrocitos del donante.
- 4) determinantes genéticos diferentes de antígenos de eritrocitos y de MHC de clase II.
- 5) factores ambientales que afectan a la unidad donada y
- 6) factores ambientales que afectan al receptor de la transfusión.

Los estudios clínicos han contribuido de forma sustancial a la comprensión de la aloinmunización de eritrocitos en poblaciones de pacientes que han sido

transfundidos en múltiples ocasiones. Los pacientes que han recibido múltiples transfusiones, muestran tasas de aloinmunización sustancialmente mayores en el rango de 19 a 43 %. Para la explicación de este fenómeno se han postulado: la disparidad demográfica entre los donantes/receptores, altas tasas de transfusión, alteraciones inmunobiológicas, debidas a la enfermedad y desequilibrio de genes inmunorreguladores asociados al gen globina. Es probable que el número de transfusiones tenga una importante influencia.

Una mayor exposición a los antígenos de eritrocitos; es decir, más transfusiones de sangre se asocia con un mayor riesgo de aloinmunización. Es así como se ha estimado que el 4% de los pacientes desarrollan anticuerpos antes de recibir la décima unidad; entre el 2.5-8% después de diez unidades, y entre 6.5-14% antes de recibir la unidad número cuarenta. (Importancia serotipificación, s. f.)

#### **4.4.2. Reacciones Hemolíticas**

Las reacciones hemolíticas transfusionales cuando ocurren son usualmente severas, sobre todo cuando son producidas por incompatibilidad del sistema ABO. Existen 2 tipos de reacciones hemolíticas transfusionales: Hemólisis Intravascular y Hemólisis Extravascular. La mayoría de las reacciones hemolíticas fatales y de las reacciones peligrosas que causan morbilidad importante, resultan de la transfusión de eritrocitos incompatibles para el sistema ABO. Otros Anticuerpos como los dirigidos contra los sistemas Rh, Kell, Duffy o Kidd son capaces de causar la reacción transfusional hemolítica aguda (RTHA).

El anti-AB puede ser una IgM que fija complemento más IgG de subclase 1 y 3, de ahí su importancia como anticuerpo hemolítico muy peligroso; se han reportado casos de anticuerpos Kidda, Kiddb, Duffya, Lewisa y Lewisb capaces de fijar complemento hasta C9, causando hemólisis con predominio intravascular; en nuestra experiencia hemos encontrado una frecuencia muy alta de anticuerpos A, B hemolíticos en los donadores del grupo sanguíneo O y que no son neutralizados a diluciones de hasta 1:32 volúmenes con plasmas de pacientes secretores de

grupo AB, así como una mayor frecuencia de sueros hemolíticos por anti-Jkb, JKa según lo reportado por autores que realizaron estudios en pacientes de raza europea. (Alcaraz-López J., 2005)

### ❖ Tipos de Hemólisis

En las RTHA están presentes 2 tipos de hemólisis: intravascular y extravascular, por lo que está en relación con el tipo de inmunoglobulina, la concentración de anticuerpo y el estado del sistema inmunológico.

#### **a) Hemólisis intravascular**

En las reacciones mediadas por IgM suelen ser inmediatas predomina la hemólisis intravascular, debido a la capacidad de estos Anticuerpos para activar el complemento hasta la formación del complejo de ataque a la membrana (C5-9). La destrucción de los eritrocitos ocurre directamente en el torrente circulatorio, lo que determina la presencia de hemoglobinemia y hemoglobinuria.

Una proporción pequeña de células no son lisadas por este mecanismo debido a la acción protectora de las proteínas reguladoras del complemento presentes en el plasma y de las proteínas inhibitorias de la membrana celular o porque moléculas de IgG se unen a los Ag. Estas células son capturadas por el sistema mononuclear fagocítico a través de los receptores para la fracción Fc de las inmunoglobulinas G y del componente C3b del complemento, lo que permite su fagocitosis o su destrucción por citotoxicidad celular dependiente de Ac. La incompatibilidad ABO es el ejemplo clásico de esta reacción.

#### **b) Hemólisis extravascular**

Cuando los aloanticuerpos son de clase IgG la reacción es tardía y predomina la hemólisis extravascular, ya que estos no activan el complemento o solo lo hacen parcialmente hasta C3. La destrucción de los eritrocitos recubiertos por inmunoglobulinas y componentes del complemento ocurre en el hígado y el bazo, después de ser capturados por monocitos y macrófagos a través de sus

receptores para la fracción Fc de la IgG y del componente C3b del complemento, es por eso que no suele acompañarse de hemoglobinemia ni hemoglobinuria, sino más bien de aumento de la bilirrubina indirecta. Una proporción de células sufren hemólisis por el mecanismo de citotoxicidad celular dependiente del Anticuerpo. Ejemplos de estos anticuerpos son los dirigidos contra los sistemas Rh, Kell, Duffy y Kidd.

En general, los anticuerpos persisten durante muchos años. Si los niveles séricos declinan por debajo de los umbrales de detección, la exposición antigénica ulterior desencadena una rápida respuesta inmunológica secundaria. Con muy pocas excepciones, los anticuerpos Rh no fijan el complemento cuando se combinan con sus antígenos, o bien esta fijación no es detectable por las técnicas de uso corriente. Por lo tanto, es las reacciones transfusionales con anticuerpos Rh, la hemólisis es sobre todo extravascular en vez de intravascular. (AAHI, 2007).

#### **4.4.3. Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido o Perinatal.**

La enfermedad hemolítica perinatal (EHPN) es una afección inmunológica aloimmune en la cual la sobrevivencia de los hematíes fetales está acortada debido a la acción de anticuerpos maternos que pasan a través de la placenta y que son específicos contra antígenos de origen paterno y fetales presentes en las células rojas. (López M., 2000)

Se han reportado numerosos aloanticuerpos dirigidos contra antígenos eritrocitarios como causa de la EHPN más frecuentemente los del sistema ABO y Rh. La EHPN por el sistema Rh (EHPN-Rh) suele ser severa, en particular por el antígeno D, es muy común encontrar el anti-D asociado con otros anticuerpos Rh (C, E, de título menor). El anticuerpo anti-c por sí solo puede producir EHPN severa.

Los avances en la prevención de la inmunización por el antígeno D han disminuido la incidencia de esta enfermedad, la EHPN por ABO (EHPN-ABO) ha sido siempre

más frecuente, pero su relación con muerte fetal o neonatal es menor que la de EHPN-Rh, en este tipo de EHPN los anticuerpos están preformados. Las subclases de IgG, predominantes en esta enfermedad son las IgG<sub>1</sub> y las IgG<sub>3</sub>.

La enfermedad hemolítica perinatal secundaria a isoinmunización anti-Rh (D) fue un importante contribuyente de morbilidad y mortalidad neonatal. Debido al uso profiláctico de gammaglobulina anti-Rh, ésta es cada vez más infrecuente, alcanzando una prevalencia de sólo 1-6 por cada 1000 recién nacidos vivos versus 43,3 por 1000 antes de la introducción de la vacuna al mercado. Sin embargo, por la no existencia de profilaxis contra los restantes 43 antígenos del sistema Rh, por procedimientos invasivos maternos (biopsia vellosidades coriales, amniocentesis y cordocentesis) y por el desarrollo de técnicas de detección más sensibles, se ha producido un aumento relativo de anticuerpos irregulares como causa de anemia hemolítica. (Almuna R. y Carvajal R., 2009)

Resulta por lo tanto importante conocer los riesgos y las opciones de manejo de las mujeres embarazadas portadoras de títulos significativos de estos anticuerpos (anti Kell, Kid, Anti-E, etc.). Lo anterior, no resulta sencillo debido a la poca experiencia internacional frente a anticuerpos Anti-E como causa de anemia hemolítica del recién nacido y a la discordancia en los elementos clásicos de control. (Almuna R. y Carvajal R., 2009)

Existen muchos reportes en la literatura sobre anemia hemolítica fetal debido a anticuerpos. Hay estudios costo-beneficio sobre la implementación a toda la población de embarazadas que muestran que económicamente no serían convenientes, dado que menos del 1% de los embarazos presentaría anticuerpos irregulares y menos de 1/10.000 presentaría anemia hemolítica por anticuerpos atípicos. Por otro lado, aunque son escasos, su importancia relativa es cada vez mayor por la profilaxis con gammaglobulina Anti D que ha disminuido drásticamente su prevalencia. (Almuna R. y Carvajal R., 2009)

En los recién nacidos se emplean la fototerapia y la exanguineotransfusión para disminuir los niveles séricos de bilirrubina producida por la hemólisis y evitar el kerníctero. Siempre que se sospeche la enfermedad se debe actuar con rapidez y precisar los anticuerpos involucrados, de esta forma disminuir su incidencia y morbimortalidad. La etiopatogenia de esta enfermedad está basada en la incompatibilidad de grupo sanguíneo materno-fetal, cuando los eritrocitos fetales poseen antígenos de origen paterno carentes en los glóbulos rojos de la madre. Esto origina el desarrollo de una respuesta inmunitaria en la madre, y paso de anticuerpos (del tipo IgG) a través de la placenta. Estos anticuerpos se unen a la membrana del hematíe fetal y facilitan su hemólisis excepto en la EHPN por ABO (EHPN-ABO), donde los anticuerpos están preformados.

Los anticuerpos ABO son una mezcla de IgM e IgG, sin embargo, los anticuerpos anti-A y anti-B predominan del tipo IgM, en tanto que las personas con grupo O son del IgG predominantemente. Debido a que la IgG atraviesa la placenta y la IgM no, los niños del grupo A o B, de madres O, presentan mayor riesgo de desarrollar enfermedad hemolítica.

Para que la enfermedad se produzca es necesario:

- Incompatibilidad de grupo sanguíneo materno-fetal.
- Aloinmunización materna específica contra un determinado antígeno fetal.
- Paso de anticuerpos maternos al organismo fetal.
- Acciones derivadas de la unión de los anticuerpos maternos sobre los hematíes fetales.

El estímulo antigénico puede producirse por Gestación: la placenta es una membrana activa y selectiva, cuyo carácter dinámico condiciona el tránsito en los 2 sentidos. El punto de contacto directo entre las circulaciones útero-feto-placentarias es el trofoblasto, unidad funcional compuesta del lado materno por la sangre del espacio intervellioso y del lado fetal por la de los capilares vellosos. La presión en los capilares de las vellosidades no ha sido medida, pero se estima que

es menor en el lado materno, lo que explicaría el paso de los hematíes fetales a la circulación materna, incluso en condiciones normales.

Los antígenos Rh están bien desarrollados entre los 30 y 45 días de la gestación. La respuesta primaria se produce a continuación de la primera exposición a un antígeno extraño. Es una respuesta débil y lenta, el estímulo para producirla debe ser lo suficientemente intenso y mayor como para producir una respuesta secundaria a dicho antígeno.

En esta etapa de la respuesta inmune los anticuerpos que se producen son de tipo IgM y pueden aparecer tan tempranamente como a las 4 semanas después del estímulo; usualmente la respuesta oscila entre 8 y 9 semanas. El anticuerpo IgM no atraviesa la placenta, por eso en el caso de un primer embarazo con feto D-positivo y sin evento aloimmunizante anterior, el niño no se afecta. Una vez que la respuesta primaria se ha desarrollado, basta con un pequeño estímulo para que se desencadene la respuesta secundaria. Esta puede ocurrir después de la exposición de cantidades pequeñas como 0,03 mL de sangre D-positiva.

El título de anticuerpos se eleva a las 48 horas y alcanza su punto máximo a los 6 días. Generalmente los anticuerpos producidos en esta etapa son de tipo IgG, los cuales si atraviesan la placenta, se unen a las células rojas fetales y las destruye:

- Activando el sistema del complemento hasta la fase de lisis celular (hemólisis intravascular).
- A través de la unión del anticuerpo anti-D a los receptores Fc de los macrófagos, produciéndose a nivel del bazo la lisis de los eritrocitos (hemólisis extravascular).
- En el caso de los anticuerpos del sistema Rh, Duffy, Kell y otros, los hematíes son destruidos por el segundo mecanismo.
- El grado de avidéz del anticuerpo anti-Rh por el antígeno Rh es el responsable de la severidad de la EHPN.

**Paso de anticuerpos maternos al feto.**

Los anticuerpos IgG pasan activamente a través del trofoblasto a la circulación fetal, puesto que este tejido posee receptores para la fracción Fc de esta inmunoglobulina. Una vez reconocida la molécula de IgG, esta es transportada al interior del trofoblasto en una vesícula endocítica y llevada hasta el lado fetal, donde se produce la exocitosis de la IgG a la circulación fetal.

La intensidad del estímulo antigénico y la modalidad de la aloinmunización condicionan la producción de subclases de IgG. La mayoría de los casos presenta más de una subclase de IgG, pero son predominantes las IgG<sub>1</sub> y las IgG<sub>3</sub>.

Las IgG<sub>2</sub> y las IgG<sub>4</sub> sensibilizan a los hematíes fetales, pero no disminuyen su vida media debido a la poca o ninguna unión a los receptores Fc de los macrófagos y a la no activación del sistema del complemento.

La IgG<sub>1</sub> pasa a la circulación fetal a las 26 semanas de gestación. Por sus características produce una anemia más intensa y de forma precoz, aunque *in vitro* sea menos hemolítica que la IgG<sub>3</sub>. La IgG<sub>3</sub> pasa a la circulación fetal entre las 28 y las 32 semanas de gestación y produce anemia de forma tardía e hiperbilirrubinemia en el recién nacido.

La capacidad de la IgG<sub>3</sub> de unirse a los receptores Fc de los macrófagos es mayor que la de los anticuerpos IgG<sub>1</sub>. En experimentos *in vitro* se ha comprobado que la IgG<sub>3</sub> es más potente y letal que la IgG<sub>1</sub>, probablemente se deba a que el aclaramiento de células Rh positivas es causado por menos moléculas de IgG<sub>3</sub> anti-D que de IgG<sub>1</sub> anti-D. La EHPN causada por IgG<sub>3</sub> sola se observa con menor frecuencia, y los títulos de anticuerpos anti-D son más bajos y el cuadro clínico moderado, caracterizado por anemia tardía e hiperbilirrubinemia en el recién nacido.

### **Acciones derivadas de la unión de los anticuerpos maternos sobre los hematíes fetales.**

Las células rojas fetales recubiertas de IgG actúan como opsoninas para las células efectoras (monocitos y/o macrófagos) a la fagocitosis o provocando la activación del sistema de complemento. La fagocitosis puede ser parcial o completa. En el caso de la fagocitosis parcial, los eritrocitos fetales recubiertos por anticuerpos pierden fragmentos de membrana y se produce una disminución de la relación entre la superficie de la célula y el volumen, se convierten en esferocitos con pérdida de la deformabilidad y no pueden atravesar los espacios interendoteliales del bazo; retenidos en esta zona son atrapados por los macrófagos y fagocitados.

La fagocitosis completa se realiza en la pulpa roja del bazo, donde la sangre está más concentrada y circula lentamente. Esto ocasiona la destrucción de los hematíes extracorpúscularmente, lo que explica la ausencia de hemoglobinuria. Es importante la Investigación del grupo ABO y Rh de los progenitores para reducir el riesgo de EHPN.

a) Sistema ABO: cuando la gestante es del grupo O y la pareja A ó B, existen posibilidades de EHPN.

b) Sistema Rh: las posibilidades son:

1. La mujer Rh negativa y esposo Rh positivo. Es la condición clásica de Levine y la causa más frecuente de EHPN.
2. La mujer es Rh positiva y esposo Rh negativo. Es la situación inversa a la anterior. Los antígenos que la provocan son el c (hr') y el e (hr'') y para que la incompatibilidad se manifieste es necesario que la mujer sea homocigótica para los antígenos C ó E y su pareja posea c ó e. La relación entre los casos debidos al antígeno D y los debidos al c era 74:1, pero después de la profilaxis anti-Rh, pasó a 10:1.

3. Los padres son Rh positivos. Hay que proceder al estudio del genotipo de la pareja. Puede ocurrir que la mujer sea homocigota para un antígeno y la pareja posea el alelo correspondiente. Fuera del sistema Rh, la incompatibilidad se producirá en un sistema distinto, también mostrado a través del estudio del fenotipo. Generalmente están implicados los sistemas Kell, Kidd, Duffy.

➤ **Evidencias de aloinmunización.**

Es fundamental para el diagnóstico que a toda gestante Rh negativa o positiva se le deben investigar los anticuerpos irregulares; inicialmente a través de pruebas de pesquizaje (prueba de anti globulina indirecta, PAI) y cuando el resultado sea positivo, se deberá investigar la especificidad y el título.

Cuando el título de anti-D sea inferior a 1/16 hasta el final de la gestación, hay pocas posibilidades de muerte fetal o neonatal. La EHPN será, leve o moderada.

➤ **Evaluación de la gravedad de la EHPN.**

Una vez confirmado el diagnóstico de EHPN es necesario analizar la dinámica del proceso hemolítico, para asegurar el buen desarrollo del feto y su viabilidad. La evolución de la gravedad de la EHPN debe basarse en la suma de los datos siguientes:

**a) Historia obstétrica y hemoterapéutica**

La EHPN tiende a manifestarse siempre como una de las formas clínicas, íctero-anémica o hidrópicas, que se agrava o no en las gestaciones siguientes. La presencia de un feto o recién nacido hidrópico en la historia de la gestante es un dato importante. En cuanto a la historia hemoterapéutica se debe recordar que la transfusión de sangre incompatible produce una aloinmunización intensa.

**b) Características del anticuerpo**

La mayoría de las formas graves están causadas por anticuerpos anti-D, aunque otros sistemas son capaces de producir la EHPN (ACS anti-c, -K, -S, -s, -PP<sub>1</sub>P<sup>k</sup>). La titulación del anticuerpo es válida sólo en la primera gestación donde aparece el anticuerpo. En embarazadas inmunizadas posteriores, si el título de anticuerpos es elevado desde el comienzo, este puede aumentar más aún, disminuir o permanecer inalterado. Por esta razón, en las pacientes previamente inmunizadas, los títulos seriados de anticuerpos no son un método confiable para evaluar el estado del feto. En estos casos debe evaluarse el líquido amniótico.

La cuantificación del anticuerpo presenta más correlación con la severidad que el título; si es < 4-5 UI/mL, el recién nacido tendrá Hb superior a 100 g/L, la bilirrubina menor de 85 µmol/L y solamente el 4 % de ellos requieren exanguinotransfusión (ET). Si es > de 4-5 UI/mL, el 75 % de ellos necesitarán una ET y tendrán una Hb inferior a 100 g/L.

**4.4.4. El sistema antigénico leucocitario humano y la Medicina Transfusional**

Los anticuerpos y antígenos del sistema HLA desempeñan un papel muy importante en una serie de eventos relacionados con la transfusión, como:

**\* Refractoriedad plaquetaria mediada por reacción inmune.**

Se reporta en un 60% de los receptores que han sido multitransfundidos. La aloinmunización HLA se genera contra antígenos clase I que ha sido provocada por los leucocitos residuales presentes en los hemocomponentes celulares (concentrados plaquetarios, paquetes globulares y/o sangre total).

Niveles de leucocitos de  $5 \times 10^6$  puede ser una dosis de inmunización. Los receptores con este tipo de aloinmunización y refractoriedad a plaquetas deben ser transfundidos con unidades de concentrados plaquetarios obtenidas por aféresis de un donante HLA compatible. Se produce en receptores con

anticuerpos anti-HLA o antiantígenos plaquetarios específicos por transfusiones o embarazos previos.

Estos anticuerpos producen la destrucción de las plaquetas que contengan el antígeno correspondiente, manifestándose generalmente en un mínimo incremento en el recuento plaquetario inmediatamente después de la transfusión de plaquetas y una pobre respuesta terapéutica. Debe diferenciarse de aquellos casos de supervivencia acortada de las plaquetas por razones no inmunológicas (coagulación intravascular diseminada [CID], sepsis, esplenomegalia, etc.).

La refractariedad plaquetaria es una complicación relativamente frecuente en receptores que reciben soporte crónico con concentrados plaquetarios (30-50%).

#### **4.4.5. Reacciones transfusionales no inmunes**

##### **➤ Reacciones transfusionales febriles.**

Las reacciones de este tipo están relacionadas con anticuerpos anti-HLA específicos, tanto de granulocitos como de plaquetas. Los anticuerpos reaccionan con los antígenos del donador provocando la liberación de citocinas que causan fiebre.

##### **➤ Lesión pulmonar aguda por transfusiones.**

La incidencia real de ésta es desconocida, es una complicación transfusional subdiagnosticada observada como un edema pulmonar no cardiogénico agudo, causada por anticuerpos anti-HLA en la sangre del donador que reaccionan con la fijación de complemento a antígenos tisulares del receptor, ocasionando daño capilar y edema pulmonar.

La infusión pasiva de anticuerpos del donante, desempeña un papel preponderante que reacciona directamente con los correspondientes antígenos presentes en los leucocitos del receptor. Se postula que el TRALI (Lesión pulmonar aguda) esta ocasionada por dos eventos independientes: El primero respondería a circunstancias clínicas propias del receptor que provocarían daño

endotelial pulmonar. El segundo vendría ocasionado por la infusión pasiva de anticuerpos o modificadores de la respuesta biológica, incluyendo lípidos activos procedentes del donante.

➤ **Enfermedad injerto contra hospedero.**

Aquí se ven involucrados varios factores relacionados con la inmunidad del receptor y la viabilidad de los linfocitos del componente transfundido y el grado de compatibilidad HLA entre el donador y el receptor.

Se trata de una complicación casi siempre fatal originada por la transfusión de linfocitos T viables a receptores con una inmunodepresión intensa (receptores de progenitores hematopoyéticos, transfusión intrauterina, enfermedad de Hodgkin, SIDA, entre otros) o receptores inmunocompetentes que comparten algún haplotipo con el donante (familiares en primer o segundo grado, o receptores transfundidos con productos HLA compatibles seleccionados). Los linfocitos injertan y proliferan atacando diversos órganos y tejidos del receptor.

#### **4.5. Métodos para la detección e identificación de Anticuerpos Irregulares**

Hay diferentes formas de evidenciar una reacción Antígeno-Anticuerpo: Aglutinación, Hemólisis, Inhibición, Absorción y Elución. Elisa, RIA y Precipitación. Dado que los Antígenos eritrocitarios, se encuentran en la superficie de las células, las formas más utilizadas para su estudio son: Aglutinación y Hemólisis. (Almuna R. y Carvajal R., 2009)

Las técnicas para la detección e identificación de anticuerpos irregulares son adecuadas para analizar el suero que se está investigando en todas las fases en las que inicialmente el anticuerpo mostró actividad, sin embargo, pueden aparecer anticuerpos adicionales en diferentes fases de la prueba y la reactividad de algunos anticuerpos pueden incrementarse, prolongando los periodos de incubación, disminuyendo la temperatura o utilizando métodos más sensibles como las técnicas enzimáticas.

Todos los protocolos de investigación de anticuerpos deben iniciarse con el grupo sanguíneo ABO y Rho(D). Aun cuando se conozcan estos datos previamente, la investigación de anticuerpos irregulares libres en suero debe realizarse por lo menos con dos técnicas, la primera siempre será la salina llevada hasta la fase de Coombs, ya que en la mayoría de los casos permite diferenciar la IgM en su fase rápida, a 22 y 37 °C de la IgG en su fase de Coombs. Una segunda técnica puede ser un medio hiperproteico como la albúmina, o enzimas como bromelina o LISS, siendo esta última la más eficaz. (Alcaraz-López J., 2005)

En los pacientes con Coombs directo positivo es necesario el tratamiento de los eritrocitos con glicina a pH ácido para eliminar los anticuerpos unidos a los antígenos, recordando que los antígenos del sistema Kell se destruyen con este tratamiento y los del sistema Lewis, P y MN se vuelven positivos en la mayoría de los tratamientos. Las columnas de gel utilizadas para el Coombs directo específico para la separación de poblaciones celulares diferentes provenientes de la transfusión de eritrocitos y para la separación de autoanticuerpos y aloanticuerpos, son la mejor opción por su eficiencia para la separación, facilidad de lectura y porque se puede llegar a un consenso de lo observado, algo que no puede lograrse con la lectura en pruebas de tubo de vidrio. (Alcaraz-López J., 2005)

Existen diferentes elementos o factores que influyen en la reacción antígeno-anticuerpo y que deben conocerse para utilizarlos adecuadamente en la búsqueda de anticuerpos irregulares:

➤ **Relación suero/hematíes**

- Exceso de anticuerpos
- Exceso de antígenos
- Puede aumentarse la relación a 4 gotas de suero para detectar anticuerpos débiles sin agregar potenciadores.

Aumentando el volumen de suero incubado con un volumen fijo de hematíes se potencia la reactividad de anticuerpos presentes a baja concentración. Un procedimiento aceptable es mezclar 5-10 volúmenes de suero con un volumen de suspensión de hematíes al 2.5% en salina e incubar durante 60 minutos a 37°C agitándolo de vez en cuando para promover el contacto entre los hematíes y las moléculas de anticuerpo. En la prueba de antiglobulina, el suero debe eliminarse antes de lavar los hematíes ya que los 3-4 pasos normales de lavado pueden no ser suficientes para eliminar todas las inmunoglobulinas no fijadas. No se recomiendan lavados adicionales debido a que las moléculas de anticuerpos pueden eluirse.

➤ **Temperatura**

Algunos aloanticuerpos (por ejemplo anti M-P<sub>2</sub>) que reaccionan a temperatura ambiente, lo hacen mejor a temperaturas más bajas; la especificidad puede manifestarse solo a 22°C o menos. Es especialmente importante un autocontrol para las pruebas a temperatura bajas, ya que muchos sueros contienen autoanticuerpos fríos.

➤ **Tiempo de incubación**

Para algunos anticuerpos, en especial cuando se utiliza medio salino o albuminoso, un periodo de incubación de 15 minutos puede mejorar la reactividad y ayudar a esclarecer el patrón de reacciones observadas.

- Reacciones Ag-Ac están en equilibrio dinámico.
- El rango de tiempo es entre 30-60 minutos para sistemas preparados en solución salina.
- Los medios potenciadores pueden disminuir este tiempo a 10 minutos.

➤ **pH**

La mayoría de los anticuerpos reaccionan entre 6.8 y 7.2, hay ejemplos de anti-M que reaccionan mejor a 6.5. Las reacciones con ciertos anticuerpos especialmente algunos casos de anti-M, se potencian al disminuir el pH del medio de reacción hasta 6.5 por lo tanto, cuando se sospecha una especificidad anti-M debido a que solo se aglutina los hematíes M+N, la prueba con suero acidificado puede poner de manifiesto un patrón de reactividad anti-M definitivo. La disminución del pH hasta 6.5 se consigue añadiendo un volumen de HCL 0.2 N a nueve volúmenes de suero. Deben analizarse hematíes de M- en paralelo frente al suero acidificado para descartar una aglutinación inespecífica.

**Cuadro 3.** Factores que influyen en la reacción antígeno-anticuerpo.

Condición	Mecanismo
<b>Prueba de Coombs</b>	Permite evidenciar anticuerpos incompletos o sensibilizantes.
<b>Soluciones de baja fuerza iónica:</b>	Reducen la barrera electrostática facilitando la reacción antígeno anticuerpo.
<b>Enzimas</b>	Potencializan la reacción antígeno anticuerpo reduciendo la superficie de carga y removiendo estructuras que interfieren en el acceso de los moléculas del anticuerpo
<b>Centrifugación</b>	Acelera la reacción antígeno anticuerpo, por la fuerza que produce la misma.
<b>Temperatura</b>	Afecta la reacción antígeno-anticuerpo de acuerdo con la temperatura óptima de reacción: 4 a 22 °C para los fríos, o 37 °C para los calientes.
<b>Proporción de antígeno y anticuerpo</b>	Es importante en la búsqueda de la zona de equivalencia de la reacción antígeno-anticuerpo.

#### **4.5. 1. Autocontrol**

Es importante conocer cómo reacciona el suero problema con los eritrocitos autólogos. Esto ayuda a determinar si están presentes los aloanticuerpos o autoanticuerpos o ambos. El suero que reacciona con los hematíes reactivos generalmente solo contiene aloanticuerpos, mientras que la reactividad tanto con hematíes reactivos como con hematíes autólogos sugiere la presencia de aloanticuerpos y autoanticuerpos en pacientes que producen aloanticuerpos contra antígenos de hematíes recientemente transfundidos.

La presencia de hematíes del donante recubierto de aloanticuerpos dará lugar a un autocontrol positivo. Esto puede interpretarse erróneamente debido a la acción de autoanticuerpos. Debe obtenerse una historia clínica detallada de transfusiones recientes en todos los pacientes cuyos hematíes estén recubiertos in vivo por globulinas. Se recomienda la inclusión de un autocontrol en los estudios de identificación de anticuerpos, aunque se haya realizado previamente. La repetición de estas pruebas permite la comparación simultánea de la reacción con hematíes autólogos y hematíes reactivos.

La presencia de autocontrol positivo puede requerir pruebas adicionales. Deben considerarse los estudios de elución si el paciente ha recibido recientemente una transfusión, hay evidencia de hemólisis inmune y si los resultados de estudios séricos no dan resultados concluyentes. Por ejemplo: Un aloanticuerpo débilmente reactivo que reaccione con la mayoría de los hematíes Fy (a+) aunque no con todos puede estar presente en el suero de un paciente recientemente transfundido cuyos hematíes muestran un autocontrol positivo. En este caso puede ser posible confirmar la especificidad anti Fy<sup>a</sup> mediante estudios de elución. Cuando un autocontrol es negativo, se excluye la presencia de autoanticuerpos.

#### **4.5. 2. Hematíes reactivos**

El suero problema debe analizarse siguiendo las técnicas deseadas con panel de 8 o más muestras de hematíes del grupo “o” con fenotipo de grupo sanguíneo conocido. Estos paneles de hematíes pueden adquirirse de casas comerciales o fabricarse utilizando hematíes de la población local de donantes. En cada panel comercial se facilita una lista que recoge de forma más o menos detallada el fenotipo de cada muestra de hematíes.

Para que sea eficaz un panel de hematíes reactivos deben permitir identificar con confianza aquellos aloanticuerpos clínicamente significativos que se detectan con mayor frecuencia, como anti D, anti E, anti K y anti Fy<sup>a</sup>. Cuando un suero contiene solo uno de estos anticuerpos los fenotipos de los hematíes del panel deben ser tales que excluyan al menos provisionalmente, la presencia de los otros aloanticuerpos más comunes.

Debe quedar claro un patrón característico de reactividad para la mayoría de aloanticuerpos únicos. Por ejemplo: todas las muestras K<sup>+</sup> no deben ser las únicas que también sean E<sup>+</sup>, además para que se puedan excluir al azar como causa de un patrón aparentemente definitivo; debe haber un número suficiente de muestra de hematíes y que estos a su vez no tengan la mayoría de antígenos.

#### **4.5. 3. Técnicas enzimáticas**

Las técnicas enzimáticas ofrecen ventajas sustanciales en los estudios de identificación de anticuerpos. Algunos anticuerpos, como los anticuerpos Rh y ciertos tipos de anti-Le<sup>a</sup> y anti JK<sup>a</sup> fijadores de complemento potencian su reactividad en las pruebas enzimáticas. En cambio, el tratamiento enzimático desnaturaliza algunos antígenos de grupo sanguíneo, especialmente M, N, S, Fy<sup>a</sup> y Fy<sup>b</sup> por lo tanto la hemólisis y la pérdida a la potenciación de la reactividad del anticuerpo en las pruebas enzimáticas son pistas útiles para la identificación de anticuerpos.

#### **4.5. 4. Técnicas de potenciación**

Cuando un patrón de reacciones débiles no refleje ninguna especificidad, o cuando se sospeche la presencia de un anticuerpo, pero no puede demostrarse, puede ser útil emplear algunos de los siguientes métodos.

##### ➤ **Soluciones potenciadoras**

Algunos anticuerpos de grupo sanguíneo reaccionan mejor en pruebas que utilizan LISS. Los reactivos de baja fuerza iónica aceleran las captaciones de anticuerpos (es decir la primera etapa de la reacción de hemoaglutinación que implica la asociación de las moléculas de anticuerpos con los hematíes). Se han descrito varios procedimientos que utilizan LISS.

Algunos utilizan policationes como sulfato de protamina o Polybrene para agregar los hematíes suspendidos en LISS recubiertos de anticuerpos, con lo que promueven la segunda fase de las reacciones de hemoaglutinación. La agregación inespecífica inducida por los policationes se dispersa fácilmente por la adición de solución salina o soluciones de tampón fosfato o citrato sódico glucosa, permitiendo reconocer la aglutinación debido a interacciones antígeno- anticuerpo. Los hematíes pueden posteriormente someterse a prueba con antiglobulina humana.

##### ➤ **Reactivo con grupo tiol**

Los reactivos con grupo tiol, como el ditioneitol (DTT) y el 2- mercaptoetanol (2-ME) escinden los puentes disulfuro dispuestos entre las subunidades de las moléculas de IgM. Las moléculas intactas de IgM de 19S se escinden en subunidades de 7S que tienen una reactividad serológica alterada. Los puentes intercatenarios de las subunidades 7S de IgM y de las moléculas de IgG e IgA, son relativamente resistentes a esta escisión. Las aplicaciones del ditioneitol y el 2- mercaptoetanol en inmunohematología incluyen:

- Determinación de la clase de inmunoglobulina a la que pertenece un anticuerpo.
- Disociación de hematíes aglutinados por anticuerpos IgM (la aglutinación espontánea de los hematíes por autoanticuerpos fríos potentes)
- Identificación de las especificidades en una mezcla de anticuerpos de tipo IgM e IgG especialmente cuando un anticuerpo IgM hemaglutinante enmascara la presencia a anticuerpo IgG.
- Disociación de anticuerpos IgG de los hematíes utilizando una mezcla de ditiotritol y una enzima proteolítica (reactivo ZZAP)
- Conversión de anticuerpos IgG no aglutinantes en aglutininas directas: se comercializan reactivos de tipificación para pruebas rápidas en tubo o porta objetos con solución salina.

#### **4.5. 5. Método de adsorción**

Los anticuerpos pueden eliminarse de un suero por adsorción utilizando hematíes que tengan antígenos correspondientes. El anticuerpo forma un complejo con los antígenos fijados a la membrana eritrocitaria. Cuando se separa el suero y los hematíes, el anticuerpo permanece a los hematíes. La elución posterior de los anticuerpos fijados puede ofrecer a menudo una información adicional útil. Las técnicas de adsorción son útiles en situaciones como:

- 1- Eliminar la actividad de autoanticuerpo para permitir la detección de aloanticuerpo coexistente.
- 2- Eliminar anticuerpos indeseados de un suero que contiene un anticuerpo adecuado para usar como reactivo, por ejemplo: la eliminación de anti A o B de un suero que contenga anti Fy<sup>2</sup> frente a hematíes de grupo ABO.
- 3- Confirmar la presencia de antígeno en los hematíes mediante su capacidad para eliminar un anticuerpo específico en un suero.
- 4- Confirmar la especificidad de un anticuerpo al demostrar que puede absorberse solo con hematíes de un fenotipo de grupo sanguíneo específico.

5- Separar los múltiples anticuerpos que pueden estar en una misma muestra de suero. Estos estudios requieren el empleo de pruebas de adsorción y elusión combinadas y son útiles para la identificación de mezclas completas de anticuerpos.

El tratamiento previo de los hematíes con una enzima proteolítica puede potenciar su unión con el anticuerpo y, por lo tanto reducir el número de adsorción necesaria para su eliminación completa. Puesto que algunos antígenos como H, N y Fy<sup>a</sup>, son destruidos por las proteasas, es posible que los anticuerpos dirigidos contra esos antígenos no sean eliminados por los hematíes tratados con enzimas.

Cuando se separan mezclas de anticuerpos es sumamente importante seleccionar hematíes de fenotipo apropiado, debe sospecharse o conocerse al menos la especificidad de unos anticuerpos, con el fin de escoger hematíes que no tengan un antígeno pero que sean portadores de otro. Debe disponerse de cantidades suficientes de hematíes; no es suficiente con los viales de hematíes reactivos; la fuente más conveniente son muestras de sangre de miembros del personal hospitalario o del donante.

#### **4.5. 6. Método de elución**

En la técnica de elución se liberan las moléculas de anticuerpos fijados a los hematíes; el objetivo de la mayoría de estas técnicas es recuperar el anticuerpo unido sin que pierda su actividad. El anticuerpo fijado puede liberarse cambiando la termodinámica de las reacciones antígeno-anticuerpo, neutralizando e invirtiendo las fuerzas de atracción que mantienen unidos los complejos antígeno-anticuerpo o alterando la complementariedad estructural entre un antígeno y la zona de fijación correspondiente en la molécula de anticuerpo.

Se han descrito diversos métodos para eluir el anticuerpo de los hematíes recubierto. Aunque ninguno de los métodos es el mejor en todas las situaciones clínicas, el uso de la elución por calor debe limitarse al estudio de las EHRN por

ABO, y la elución acida o solvente orgánico como el éter debe emplearse para la elución óptima de auto y aloanticuerpos calientes.

Las técnicas de elución son útiles para:

- La investigación de anti globulina directa positiva.
- La concentración y purificación de anticuerpos. La detección débilmente expresada y la detección de anticuerpo de especificidad múltiple, se utilizan como técnica de adsorción adecuada.
- La preparación de hematíes anticuerpos para su empleo en los estudios fenotipados y de adsorción autóloga.

#### **4.5. 7. Pruebas combinadas adsorción- elución**

Las pruebas combinadas de adsorción- elución pueden ser a menudo útiles si se aplican en la detección de antígenos débilmente expresados en los hematíes o en la identificación de anticuerpos débiles. Aunque un anticuerpo puede no causar aglutinación directa, puede adsorberse sobre hematíes antígeno- positivos. La pérdida de reactividad del anticuerpo en el suero absorbido y su posterior recuperación a partir de los hematíes recubiertos demuestran que se ha producido una interacción antígeno-anticuerpo. Además, estos métodos pueden tener un valor incalculable para la separación anticuerpos en suero con presencia de múltiples anticuerpos o para la producción de reactivos.

##### ➤ **Detección de antígenos y anticuerpos débiles**

La adsorción de un anticuerpo, para demostrar la presencia o ausencia de antígenos no correspondiente sobre los hematíes, se consigue mejor utilizando una relación suero-hematíes baja. Debe presentarse la máxima atención y no diluir el suero y el anticuerpo, con la solución salina residual procedente de los hematíes incorrectamente concentrados.

La determinación por refractometría de las concentraciones de proteínas en el suero antes o después de la adsorción es un control adecuado de esta dilución.

Una reducción de título de 10 o más se considera evidencia de la presencia de antígenos correspondientes en los hematíes reactivos. Deben realizarse adsorciones de control utilizando hematíes de los que se tenga certeza que carecen de antígenos en cuestión.

Cuando tenga que recuperarse el anticuerpo de los hematíes mediante elución posterior, debe utilizarse una relación suero- hematíes superiores para sensibilizar los hematíes en el anticuerpo, esto puede permitir la producción de un eluido más potente que el suero original. El volumen del eluido preparado, debe analizarse frente a hematíes no recubierto de la misma muestra utilizada para la adsorción, para establecer que el anticuerpo fue o no sometido a elución.

➤ **Identificación de anticuerpos de suero multiespecífico**

La prueba de adsorción-elución puede utilizarse con objetivos de identificar anticuerpos en suero que contengan múltiples anticuerpos de especificidades comúnmente concentrados, por Ej. Anti D, K, Fy<sup>a</sup>, etc. Deben realizarse cuando todas las otras, incluyendo las pruebas con muestras múltiples de hematíes reactivos y las pruebas enzimáticas, no hayan podido dar respuesta totalmente satisfactoria al problema. Es imprescindible disponer de cantidades suficientes de hematíes. Es útil fenotipar los hematíes de los miembros del equipo para disponer de muestras suficientes cuando sea necesario.

La selección de los hematíes para la adsorción es crucial para el éxito de estos estudios, debe ser fruto de la intuición influida por el fenotipo del producto del anticuerpo; el conocimiento que los anticuerpos pueden estar presentes debe ayudar a la selección de muestras de hematíes que demostrarán su presencia o ausencia. Debe utilizarse una o más muestras de hematíes débilmente reactivos, que tendrán solo uno de los antígenos frente a los cuales el suero ha demostrado su reactividad.

El suero problema debe tratarse varias veces mediante métodos de adsorción, hasta que ya no reaccione con los hematíes utilizados para la misma. Tanto el suero tratado como el eluido preparado a partir de los hematíes utilizados en la primera adsorción, deben examinarse en cuanto a su especificidad de anticuerpos. Aunque los anticuerpos específicos se hagan aparente en una o ambas preparaciones, no siempre es así; algunos anticuerpos especialmente los de alto título y baja avidéz son difícil de adsorber y eluir. Además el suero puede no ser reactivo tras la adsorción, aunque el eluido reaccione con todas las muestras de hematíes reactivos.

Este hallazgo puede indicar la presencia de un anticuerpo contra un antígeno de elevada incidencia que tiene expresión variable en los hematíes o puede deberse a la dilución del anticuerpo del suero durante el proceso de adsorción. En el suero de pacientes recién transfundidos en lo que la adsorción autóloga no es adecuada, puede ser necesaria la adsorción con hematíes seleccionados y tratados con ZZAP. Por ejemplo; si pueden determinarse los fenotipos Rh y Kidd del paciente, (a partir de las pruebas previas o tras la aplicación de los métodos de separación y tratamiento con difosfato de cloroquina). Estos hematíes no deberían absorber la mayoría de aloanticuerpos clínicamente significativos si se encontraran presentes ya que carecen de los antígenos Rh y Jk presente en los hematíes del paciente y no contienen los antígenos del sistema Kell (excepto Kk) ni los antígenos de los sistemas Duffy y MN.

➤ **Aislamiento de anticuerpos específicos**

Los métodos de adsorción-elución son medios eficaces para preparar antisueros con hematíes de cualquier grupo ABO, especialmente anticuerpos contra antígenos de alta incidencia ya que puede ser difícil encontrar hematíes de los grupos A y B (o ABO) que carecen de los antígenos correspondientes para la eliminación de anti A y anti B por adsorción simple.

Un eluido preparado a partir de hematíes del grupo “O” que se sepa que reacciona con el anticuerpo en cuestión debe contener sobre el anticuerpo la especificidad deseada sin anti-A ni anti-B. Los anticuerpos purificados de este modo pueden guardarse congelados, siempre que se ajuste la concentración de proteínas al 6% con albumina bovina y puede utilizarse para el fenotipo de hematíes de individuos que presente o se sospeche la existencia de un anticuerpo frente a un antígeno de alta incidencia.

Puede utilizarse un esquema para confirmar la especificidad de la reacción serológica, especialmente cuando un suero reacciona con alguna muestra de hematíes reactivos que carecen por no compartir antígenos comunes. El suero puede contener varios anticuerpos contra antígenos de baja incidencia o un anticuerpo único frente a un determinante específico desconocido (para el cual los hematíes reactivos no han sido tipificados). En este último caso se observará un eluido preparado después de la incubación del suero con una muestra de hematíes reactivos que reaccionaran con todas las otras muestras de hematíes, con los cuales el suero reaccionaba inicialmente.

#### **4.5. 8. Titulación**

El título de anticuerpo se determina normalmente utilizando una serie de diluciones dobles del suero frente a muestras de hematíes seleccionados los resultados son la expresión recíproca de la dilución máxima del suero que produce una aglutinación microscópica, el título da una idea aproximada de la cantidad relativa de anticuerpo presente en el suero, o de la intensidad de la expresión del antígeno en los hematíes. Los estudios de titulación se realizan generalmente en las situaciones siguientes:

- Estudios prenatales: cuando un anticuerpo tiene una especificidad conocida por su capacidad para producir la EHRN, la significación clínica del anticuerpo es desconocida, los títulos obtenidos en muestras repetidas junto con el

número de embarazos previos y la observación clínica se utiliza para valorar la necesidad de una amniocentesis.

- Identificación de anticuerpos: algunos anticuerpos producen aglutinación de prácticamente todas las muestras de hematíes reactivos, pero la especificidad puede conocerse por la intensidad de la reacción por cada muestra en los estudios de titulación.

#### **4.5. 9. Técnica enzimática**

Uso de enzimas: Enzimas proteasas como la bromelina, tripsina, papaína y ficina se utilizan en las pruebas serológicas porque reducen la carga de la superficie de los eritrocitos al hidrolizar las sialoglicoproteínas de la superficie celular.

##### **❖ Bromelina (bromelasa)**

Por el fuerte efecto que tiene esta enzima sobre los eritrocitos, los tiempos de incubación se reducen. El procedimiento es de la siguiente forma: a los eritrocitos lavados se les agrega el suero problema en la proporción ya descrita más una gota de la enzima; se incuban, se centrifugan y se leen. Después se incuban a 37°C por 15 minutos; se centrifugan y se leen. Para finalizar, se lavan en la forma ya mencionada y se les agrega suero de Coombs; se centrifugan y se leen.

#### **4.5. 10. Técnica en Albúmina**

En esta técnica se procede de forma parecida a la técnica en salina, sólo que se omite el paso de la incubación a 22 °C, respetándose también los tiempos de incubación. Como reactivo adicional se agrega en cada tubo dos gotas de solución albuminosa. A pesar de que algunos anticuerpos Rh reaccionan en medio salino como aglutininas, la mayoría de ellos reacciona mejor en sistemas antiglobulínicos ricos en proteínas o enzimáticos. Aun los sueros que contienen anti D potentes en solución salina suelen ser reactivos en diluciones mayores en las pruebas antiglobulínicas. Algunos inmunohematólogos consideran que las técnicas enzimáticas son muy útiles para detectar anticuerpos Rh débiles o en desarrollo.

#### **4.5. 11. Técnica en salina**

Previamente lavados, los eritrocitos del panel de fenotipo conocido o de la sangre de donación se ponen en contacto con el suero problema a razón de una gota de células resuspendidas de 2 a 3 % por dos del suero problema. Para iniciar el proceso se centrifugan y se leen; posteriormente se incuban a una temperatura de 22 °C por un tiempo mínimo de media hora a una hora cuando se sospecha una enfermedad por anticuerpos fríos de tipo autoinmune; centrifugar y leer para descartar o confirmar este diagnóstico. El siguiente paso es incubar a 37 °C por 30 a 60 minutos, empleando el mayor tiempo cuando se sospecha sensibilización por transfusión o embarazos previos. Centrifugar, leer y finalmente lavar los eritrocitos tres veces con solución salina para retirar totalmente las proteínas séricas y al final agregar suero de Coombs; centrifugar y leer.

#### **❖ Técnica en solución salina de baja fuerza iónica o LISS (low ionic strength-saline)**

Los eritrocitos previamente lavados y suspendidos en una dilución entre 2 y 3 %, se lavan una vez con dos a tres gotas de solución de LISS, se decantan a sequedad y se agregan dos gotas de LISS más dos gotas del suero problema; homogeneizar y agregar dos gotas más de LISS, incubar por 15 minutos a 37° C, lavar nuevamente tres veces con solución salina y agregar suero de Coombs; centrifugar y leer.

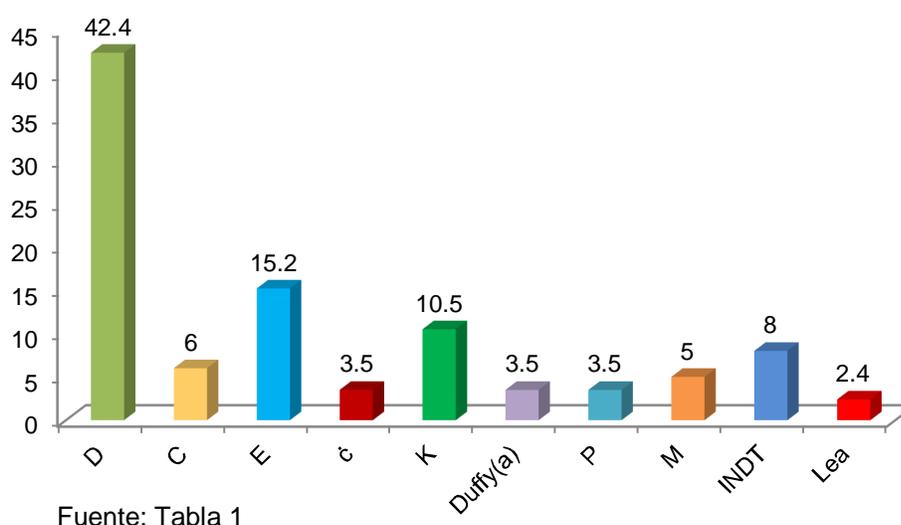
#### **4.5. 12. Escrutinio de anticuerpos antígeno leucocitario humano (screening)**

Esta prueba permite, en una sola determinación, detectar la presencia de anticuerpos contra los antígenos de compatibilidad HLA, tanto clase I como clase II; de igual manera, permite detectar la presencia de los anticuerpos dirigidos contra antígenos denominados cadena A relacionada a MHC clase I (MIC-A), que han sido ampliamente descritos en la literatura por su participación en casos de rechazo de injertos.

#### 4.6. Frecuencia de anticuerpos irregulares que han sido detectados en el Centro Nacional de Sangre de Managua, Nicaragua.

Para determinar la frecuencia de los anticuerpos irregulares, se utilizaron datos suministrados por el licenciado Ramón Medrano Chávez responsable del área de Inmunohematología del Centro Nacional de Sangre, Cruz Roja Nicaragüense. Cabe mencionar que el Centro Nacional de Sangre es el centro que realiza la identificación de anticuerpos de significación clínica en el país. Los datos corresponden a los anticuerpos de grupos sanguíneos de significación clínica identificados en muestras de donantes voluntarios y por reposición que asistieron a dicho centro en el periodo de Enero 2009 – Julio 2010. Según lo manifestado por el Lic. Medrano, ésta es la información más reciente de investigaciones realizadas y datos recolectados sobre el tema en el centro de donación. De igual manera expresó, que actualmente en el Centro por motivos de presupuesto, únicamente se está realizando la detección de anticuerpos irregulares.

**Gráfico 1.** Frecuencia de anticuerpos de grupos sanguíneos de significación clínica identificados en muestras de donantes voluntarios y por reposición del Centro Nacional de Sangre. Enero 2009-Julio 2010.



Según el gráfico 1, el anticuerpo irregular de mayor frecuencia fue el anti-D, con 36 casos correspondientes al 42.4% del total, seguidamente el anti-E con 13 casos (15.2%), el anti-K con 9 casos (10.5%), anticuerpos indeterminados con 7 casos (8%), anti-C 5 casos (6%), anti-M con 4 casos (5%), anti-c, anti-Duffy (a) y anti-P con 3 casos cada uno (3.5%) y anti-Lea con 2 casos (2.4%).

La bibliografía consultada indica que el anticuerpo irregular de mayor frecuencia es el anti- D. (Cruz R; García Y; Hernández T., Enero 2007). El anticuerpo anti-D es el más inmunógeno y es reconocido como responsable de la mayoría de los casos de enfermedad hemolítica del recién nacido, sin embargo hay más de 50 anticuerpos relacionados con esta entidad. Los anticuerpos anti-Rh son clínicamente significativos. Las especificidades de los mismos consisten en:

- ✧ Anti-D: es el más frecuente. Puede causar reacción transfusional (RT) y Enfermedad Hemolítica Feto Neonatal (EHFN) severa.
- ✧ Anti-c: muy frecuente. Puede causar RT y EHFN severa.
- ✧ Anti-E: muy frecuente. Puede causar RT y EHFN severa.
- ✧ Anti-C: raramente solo; está presente en mezclas: antiC+D. Pueden provocar RT y EHFN.
- ✧ Anti-Cw: puede causar RT y EHFN.
- ✧ Anti-e: poco frecuente. Puede causar RT y EHFN. Especificidad encontrada frecuentemente como autoanticuerpos Asociación a enfermedades.
- ✧ Los individuos con fenotipos Rh null padecen anemia hemolítica compensada.
- ✧ Se ha observado una expresión reducida de los Ag Rh y mosaicismo Rh en leucemias, metaplasia mieloide, mielofibrosis y policitemia.
- ✧ Los genes Rh y la esferocitosis hereditaria están ligados al cromosoma 1.
- ✧ En poblaciones del sudeste asiático con ovalocitosis los antígenos del Rh están expresados débilmente.

Otros anticuerpos irregulares clínicamente significativos encontrados en el estudio fueron:

- ✧ Anti-K, es el anticuerpo irregular más común después del anti-D, ya que puede causar severas reacciones transfusionales y EHFN. Es un anticuerpo del tipo IgG, que reacciona a 37° C por Técnica del Coombs Indirecto.
- ✧ Anti-M: puede causar EHFN y reacciones transfusionales hemolíticas.
- ✧ Duffy(a), puede causar RTH inmediatas y retardadas.
- ✧ Anti-P, raramente producen RTH Inmediatas y Retardadas.
- ✧ Anti-Lea, raramente producen RTH Inmediatas y Retardadas.

En un estudio descriptivo, transversal, retrospectivo de prevalencia, con la finalidad de averiguar la frecuencia y especificidad de anticuerpos irregulares encontrados en mujeres cuyas muestras fueron remitidas durante los años 2006/2007, el anticuerpo de mayor prevalencia fue el anti-D. Además, se detectaron aloanticuerpos de baja frecuencia como anti-Dib en mujeres no caucásicas lo que pone de manifiesto el progresivo aumento la nuestra región de mujeres de población no autóctona. (Rodríguez M., 2009)

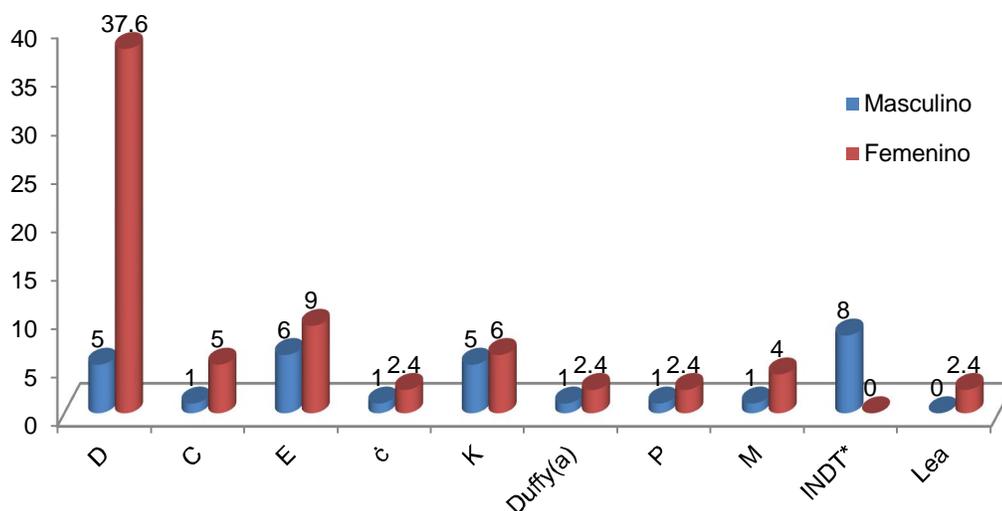
La detección de anti D en el laboratorio es más frecuente, además de por la selección de muestras mayoría Rh(-), porque eran tomadas después de la administración de la gamma globulina profiláctica, práctica que se va corrigiendo paulatinamente ya que en 2007 disminuyen los casos de mujeres con Ant-D y aumentan otros anticuerpos irregulares respecto a 2006.

Desafortunadamente para el paciente, en nuestro país y en otros muchos lugares del mundo, la mayoría de los bancos de sangre se conforman, con proporcionar sangre compatible para los antígenos ABO y Rh(D), aduciendo que estos son los antígenos que producen las reacciones transfusionales más severas, sin embargo hay muchas reacciones que aparentemente pasan inadvertidas sin que se llegue a sospechar que la causa fue una reacción transfusional, como puede suceder con

anticuerpos: anti Fya, anti Fyb, anti Jka y anti Jkb llevando incluso a la muerte del paciente. (Rodríguez M., 2009)

En consulta de control prenatal 42425 mujeres, de las cuales a 7515 (17,7%) se les practicó prueba de Coombs indirecto, La prevalencia para anticuerpos irregulares contra antígenos eritrocitarios fue 1,2%. La frecuencia para los anticuerpos encontrados en un total de 88 pacientes fue: Anti-D 53 (54,6%), Anti-C 7 ( 7,2%), Anti-E 3 (0,3%), Anti-Cw 1 (1,0%), Anti-K 4 ( 4,1%), Anti-Jkb 1 (1,0%), Anti-Fya 1 (1,0%), Anti-Lea 12 (12,4%), Anti-M 5 (5,2%), Anti-Bga 1 (1,0%), Indeterminado 5 (5,2%) y Autoanticuerpo 4 (4,1%). (Moise K., 2012)

**Gráfico 2.** Anticuerpos de grupos sanguíneos de significación clínica identificados según sexo de donantes voluntarios y por reposición del Centro Nacional de Sangre. Enero 2009-Julio 2010.



Fuente: Tabla 2

En el gráfico 2 se observa que el sexo femenino fue el más predominante con presencia de anticuerpos irregulares con 60 casos (71%) y el sexo masculino con 25 casos (29%). De los cuales correspondió, el anticuerpo de mayor frecuencia el anti-D con 32 (37.6%) casos para el sexo femenino y 4 (5%) casos para el sexo

masculino. Siguen en frecuencia, el anti-E con 8 (9.0%) casos para el sexo femenino y 5 (6%) casos para el sexo masculino, anticuerpo anti-K con 5 (6.0%) casos para el sexo femenino y 4 (5%) casos para el sexo masculino, anticuerpos Indeterminados con 7 (8%) casos únicamente para el sexo masculino, anticuerpo anti-C con 4 (5.0%) casos para el sexo femenino y 1 (1%) caso para el sexo masculino, anticuerpo anti-M con 3 (4.0%) casos para el sexo femenino y 1 (1%) caso para el sexo masculino, anticuerpo anti- $\dot{c}$  con 2 (2.4%) casos para el sexo femenino y 1 (1%) caso para el sexo masculino, Duffy(a) con 2 (2.4%) casos para el sexo femenino y 1 (1%) caso para el sexo masculino, anticuerpo anti-P con 2 (2.4%) casos para el sexo femenino y 1 (1%) caso para el sexo masculino, anticuerpo anti-Lea con 2 (2.4%) casos únicamente para el sexo femenino.

Al analizar los resultados de los anticuerpos identificados según sexo, se puede observar que el anticuerpo con mayor frecuencia tanto para el sexo masculino como el sexo femenino fue el anti-D con el 37.6% para las mujeres y 5% para hombres, la diferencia encontrada es importante y marca la tendencia de predominio de este anticuerpo en el sexo femenino. Cabe mencionar que en otros estudios se encontraron frecuencias diferentes por las particularidades de cada estudio realizados en diferentes poblaciones.

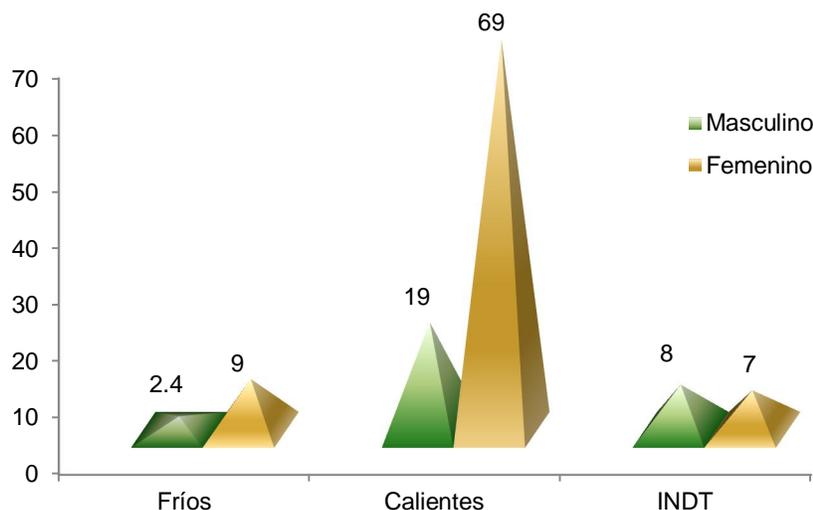
Aunque desde el punto de vista genético, la probabilidad de que un grupo sanguíneo específico sea heredado por un hombre o una mujer es la misma, ya que estos siguen un patrón de herencia autosómica, desde el punto de vista estadístico por juegos del azar, se ha observado una ligera variación en la proporción de cada grupo en varones y mujeres. (*Vásquez-Mora G., 2002*).

El antígeno D continua siendo el anticuerpo más frecuentemente identificado, aunque también se identificaron otros anticuerpos contra antígenos de baja frecuencia, que se asocian con enfermedad hemolítica del recién nacido. Los títulos más altos de anticuerpos correspondieron a anti-D y anti-Kell. Es importante implementar de manera generalizada la identificación y titulación del anticuerpo,

pues permite determinar el grado de aloinmunización y definir oportunamente las conductas médicas más adecuadas para el beneficio del paciente. (Moise K., 2012)

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 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. (Alonzo B., 2008)

**Gráfico 3.** Comportamiento según temperatura de reacción de los Anticuerpos de grupos sanguíneos de significación clínica identificados según sexo de donantes voluntarios y por reposición identificados en el Centro Nacional de Sangre. Enero 2009-Julio 2010.



Fuente: Tabla 3

El gráfico 3 muestra el comportamiento de los anticuerpos irregulares según la temperatura de reacción. Los anticuerpos de amplio rango térmico fueron los de tipo caliente con un 69% de los casos, seguido del anticuerpo frío con un 9% e

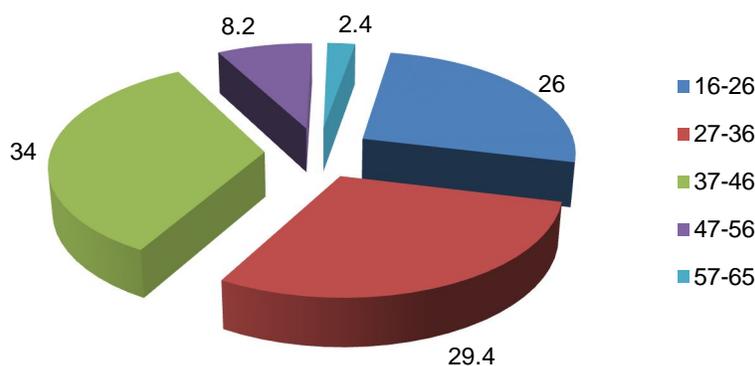
indeterminado con 7% de los casos. Predominan los casos Femeninos con 53 (62.4%) casos correspondientes a los anticuerpos calientes, y 7 (8.2%) casos para anticuerpos fríos. En relación al sexo masculino, 16 (19%) casos correspondieron para los anticuerpos calientes, 7 (8%) casos para Indeterminados y 2 (2.4%) casos para anticuerpos fríos.

La clasificación de los anticuerpos de acuerdo a la temperatura de reacción se divide en anticuerpos fríos y anticuerpos calientes. Los anticuerpos fríos van dirigidos contra los sistemas MN, Lewis y P<sub>1</sub>, con óptima reacción a temperaturas entre 4° y 22°C; estos anticuerpos son generalmente inmunoglobulinas tipo IgM y ocasionalmente tipo IgG, y debido a esa temperatura de reacción carecen de importancia clínica salvo que su reacción ocurra también a 37°C, es decir, que actúen como anticuerpos calientes. Entre estos anticuerpos sólo M y N han sido asociados con enfermedad hemolítica del recién nacido, cuya severidad va de leve a moderada. (Luna J., 2005)

Los anticuerpos calientes tienen una temperatura óptima de reacción a 37 °C, a veces visible pero en otras ocasiones sólo evidente hasta agregar antiglobulina humana (suero de Coombs). Estos anticuerpos se les asocia con reacciones transfusionales de intensidad moderada a severa, que pueden ocasionar la muerte; además, son causantes de enfermedad hemolítica en el recién nacido, quien en ocasiones requiere exanguineotransfusión.

Los aloanticuerpos irregulares (adquiridos) más comunes en nuestra población son los que involucran a los sistemas MNSs, P<sub>1</sub>, Kidd (Jka, Jkb), Duffy (Fya, Fyb), Kell, Lewis y Diego. (Luna J., 2005)

**Gráfico 4.** Edad de los donantes voluntarios y por reposición que asistieron al Centro Nacional de Sangre. Enero 2009-Julio 2010.



Fuente: Tabla 4

El gráfico 4 muestra que la edad en la cual se detectaron mayor cantidad de casos con anticuerpos irregulares fue el grupo etario de 37-46 años con un total de 34 casos correspondientes al 34%, los grupos etarios de menor frecuencia fueron edades de 27-36 años con 25 (29.4%) casos, edades de 16-26 años con 22 (26%) casos, edades de 47-56 años con 7 (8.2%) casos y edades de 57-65 años con 2 (2.4%) casos respectivamente.

Referente a los resultados anteriormente descritos, cabe destacar que los datos corresponden a donantes voluntarios y por reposición, y que uno de los requisitos para donar sangre es tener edad entre 17 a 65 años de edad. Si bien la mayoría de los casos se encontraba entre los 16 y 46 años de edad, corresponde a la mayor parte de la población que dona sangre y es captada por el Centro Nacional de Sangre.

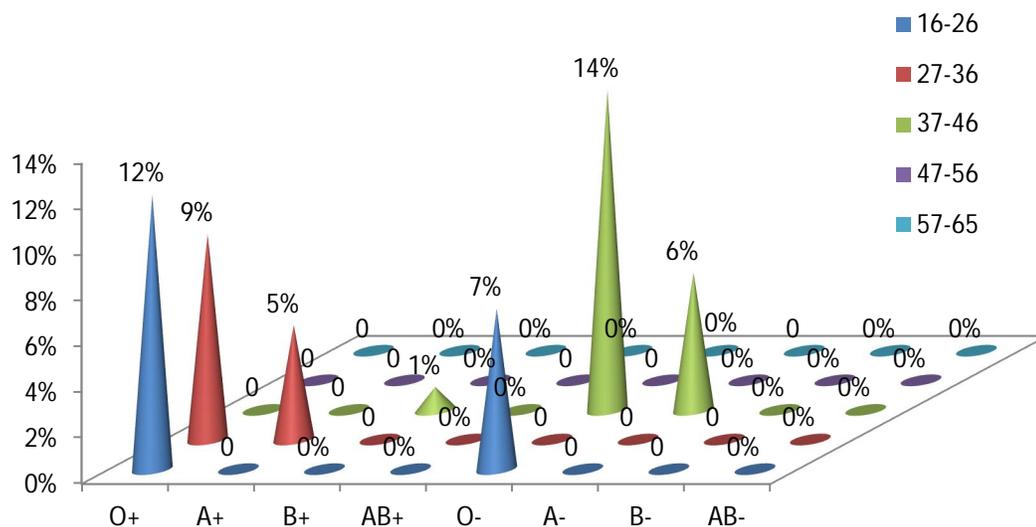
Si bien, no se encontraron estudios que relacionen la edad con los tipos de anticuerpos irregulares, hay estudios que resaltan la importancia de la detección

de este tipo de anticuerpos y los efectos que pueden tener las personas si requieren de una transfusión o un embarazo en las mujeres en edad fértil.

Se ha observado desde hace décadas que los aloanticuerpos de eritrocitos no están distribuidos equitativamente entre los pacientes transfundidos. Por el contrario, los pacientes que han hecho un aloanticuerpo contra un antígeno de grupo sanguíneo tienen más probabilidad de producir anticuerpos adicionales con las transfusiones posteriores. En contraste, los receptores que no se inmunizan con el evento inicial de la transfusión no parecen responder a los antígenos extraños durante las transfusiones posteriores. (Cortés A., 2012)

Todo esto nos lleva a buscar por dos caminos específicamente los eritrocitos compatibles: los anticuerpos irregulares encontrados en el suero, los unidos a los eritrocitos, así como el fenotipo eritrocitario del paciente, teniendo mayor cuidado en la compatibilidad de los antígenos de los sistemas Rh (D, C, E, c, e), Kell, Duffy, Diego, Kidd y Ss, implicados con mayor frecuencia en las reacciones transfusionales en la población mestiza mexicana. (Alcaraz-López J., 2005)

**Gráfico 5.** Distribución de los grupos sanguíneos ABO y Rh(D) según edad de los donantes voluntarios y por reposición que asistieron al Centro Nacional de Sangre. Enero 2009-Julio 2010.



Fuente: Tabla 5

Los resultados reflejados en el gráfico 5 en relación al grupo sanguíneo según edad de los donantes en estudio fueron los siguientes: en el grupo etario de **16-23 años** de edad: el grupo O positivo correspondió a 10 casos (12%), A positivo 1 caso (1.2%), B positivo 0 casos (0%), AB positivo 0 casos (0%), O negativo 6 casos (7%), A negativo 3 casos (3.5%), B negativo 1 caso (1.2%) y AB negativo 0 casos (0%). El grupo etario de **27-36 años** de edad: el O positivo correspondió a 8 casos (9%), A positivo 4 casos (5%), B positivo 2 casos (2.4%), AB positivo 0 casos (0%), O negativo 9 casos (10.6%), A negativo 1 caso (1.2%), B negativo 1 caso (1.2%) y AB negativo 0 casos (0%). El grupo etario de **37-46 años** de edad: el grupo O positivo correspondió a 9 casos (10.6%), A positivo 3 casos (3.5%), B positivo 2 casos (2.4%), AB positivo 0 casos (0%), O negativo 12 casos (14%), A negativo 5 casos (6%), en cuanto al B negativo y el AB negativo ambos grupos con 0 casos para cada uno (0%). El grupo etario de **47-56 años** de edad: el grupo O positivo correspondió a 3 casos (3.5%), A positivo 1 caso (1.2%), B positivo 0 casos (0%), AB positivo 1 caso (1.2%), O negativo 2 casos (2.4%), en relación a los grupos A negativo, B negativo y AB negativo todos con 0 casos (0%). El grupo etario de **57-65 años** de edad: el grupo O positivo correspondió a 1 caso (1.2%), A negativo 1 caso (1.2%), en relación al A positivo, B positivo, AB positivo, O negativo, B negativo y AB negativo todos con 0 casos (0%).

Cabe mencionar que el tipo y Rh predominante fue el grupo O Positivo con el total de 31 (36.5%) casos, seguido del O Negativo con 29 (34%) casos, A Negativo con 10 (12%) casos, A Positivo con 9 (10.6%) casos, B Positivo con 3 (3.5%) casos, B Negativo con 2 (2.4%) casos, AB Positivo con 1 (1%) caso y para AB Negativo ningún caso (0%). Si bien la edad no es un factor que influya sobre la variabilidad de la distribución de los grupos ABO y Rhesus, la frecuencia de estos grupos sanguíneos sí es un factor importante en relación a las necesidades de los componentes sanguíneos en la población, particularmente cuando se trata de la reserva no solo de los grupos más abundantes sino de aquéllos que son más raros o menos escasos hallarlos.

Estudios sobre la distribución porcentual de los grupos sanguíneos en personas con anticuerpos irregulares presentan un resultado similar con el presente estudio. En la investigación, “Rastreo piloto de anticuerpos irregulares de pacientes que reciben transfusiones en el Banco de Sangre del Hospital General San Juan de Dios”, la distribución de los 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%). (Alonzo B., 2008). La distribución de pacientes (88 mujeres embarazadas) por grupo sanguíneo y Rh fue: grupo O positivo 41 casos, A positivo 18 casos, B positivo 11 casos, AB positivo 1 caso, O negativo 5 casos, A negativo 11 casos, B negativo 1 caso y AB negativo 0 casos. (Moise K., 2012)

## **V. DISEÑO METODOLÓGICO**

### **a) Tipo de Estudio**

Tipo de investigación documental descriptiva. Fundamentada en la consulta de documentos (libros, revistas, etc.) con el propósito de analizar de forma descriptiva y exploratoria un tema en particular.

### **b) Área de estudio**

Área de Inmunohematología, Estudia las propiedades antigénicas de los elementos figurados de la sangre y de los humores, y de los diferentes anticuerpos que pueden existir en el suero sanguíneo (aglutininas, etc.). Uno de los aspectos más importantes de la Inmunohematología es el estudio y cuantificación de los grupos sanguíneos eritrocitarios que son componentes antigénicos presentes en la superficie de los hematíes, ya que se relaciona directamente con la terapéutica transfusional y la prevención de accidentes hemolíticos graves.

### **c) Recolección de la Información**

La información fue recolectada de fuente secundaria, los investigadores utilizaron libros de Inmunohematología, Revistas científicas, Páginas de internet, artículos y publicaciones donde se aborda todo lo relacionado a los Anticuerpos irregulares en Medicina Transfusional. Se consideraron dentro de este estudio todos los datos bibliográficos, útiles para cumplir con los objetivos planteados en la investigación, la cual fue realizada de forma ordenada con la finalidad de construir conocimientos. Una vez recopilado, analizado y revisado todo el material documentado, la información se ordenó y se elaboró el informe final.

### **d) Instrumento de Recolección**

Se elaboraron fichas bibliográficas, bosquejos, análisis de documentos y de contenidos. También se elaboró una ficha de recolección de datos con preguntas

directrices para recolectar la información. La ficha se utilizó para recolectar los datos suministrados por el Lic. Ramón Medrano Chávez (previa coordinación con el Lic.), responsable del área de Inmunohematología en el Banco de Sangre de la Cruz Roja Nicaragüense.

#### **e) Procesamiento de la Información**

El procesamiento de la información fue acorde a cada uno de los objetivos propuestos, para lo cual se planteó lo siguiente: un esquema de trabajo en el cual incluyó la búsqueda de la información, el bosquejo del subtema, registros de datos y análisis de la información. La información brindada por el Lic. Medrano, incluyó los datos correspondientes a la cantidad de anticuerpos detectados en el periodo de enero 2009-julio 2010, recolectados de 95830 donantes voluntarios y por reposición que asistieron a donar al Centro Nacional de Sangre, de las muestras de los donantes solamente en 85 se identificaron anticuerpos irregulares. Estos datos fueron operacionalizados y procesados a través de tablas, se utilizó el programa Microsoft Office Excel 2007 y 2010 para la elaboración de los gráficos. La información fue digitada, en el programa Microsoft Office Word 2007 y 2010. Para la presentación del trabajo se utilizó el programa Microsoft Power Point 2007 y 2010.

#### **f) Ética en la confidencialidad de los datos**

Para la realización de este estudio no se empleó ninguna técnica que conllevara riesgos, ni intervención o modificación fisiológica o psicológica intencionada que afectara directamente a alguna persona, ni que violaran los principios éticos en investigación. Con el presente estudio, mantendremos el sigilo y la confiabilidad de los resultados obtenidos. Los datos fueron recolectados de acuerdo con el consentimiento de la persona entrevistada para divulgarlos en un informe final.

**OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES**

Variables	Subvariables	Indicadores	Valores	Criterios
Anticuerpos Irregulares clínicamente significativos	-----	D, C, E, c, e, Cw, K, DUFFY(a) P, M, Lea, Otros	Sí - No	-----
Métodos para detección e identificación de anticuerpos	-----	Métodos de adsorción, Métodos de elución Titulación	Sí - No	-----
Frecuencia de Anticuerpos Irregulares	Anticuerpos Irregulares	D, C, E, c, K, DUFFY(a) P, M, Lea, INDT, otros	Sí - No	-----
	Anticuerpos Irregulares	Anticuerpos fríos Anticuerpos calientes	Sí - No	-----
	Sexo	-----	Masculino Femenino	-----
	Edad (en años)	-----	16-26 27-36 37-46 47-56 57-65	-----
	Distribución de Grupos Sanguíneos ABO y Rhesus	O+, A+, B+, AB+ O-, A-, B-, AB-	Sí - No	-----

## **VI. CONCLUSIONES**

1. Los anticuerpos clínicamente significativos son capaces de iniciar la destrucción acelerada de los eritrocitos portadores del antígeno. Tienen especificidades asociadas con: Enfermedad Hemolítica Feto Neonatal (EHFN), Reacción Hemolítica Post Transfusional (RHPT), Acortamiento de la supervivencia de los GR transfundidos y Anemia Hemolítica Auto Inmune (AHA).
2. Los anticuerpos irregulares clínicamente significativos son de tipo IgG, principalmente: los Rh (anti-D, anti-E, anti-c, anti-C, anti-Cw y otros), Kell (anti-K, k, Kpa, Kpb, Kpc, Jsa y Js b), Duffy (anti-Fya y anti-Fyb), anti-Jka, anti-Jkb, Lea y Leb, anti-Lua y anti-Lub, anti-P, anti-P<sub>1</sub>, anti-P<sub>k</sub>, anti-A<sub>1</sub>; anti-M; anti-N.
3. Las reacciones causadas por anticuerpos irregulares suelen ser Reacciones inmunes. Pueden ir de leves a severas. Las Reacciones hemolíticas son de dos tipos intravascular y extravascular.
4. Los métodos para la detección e identificación de anticuerpos irregulares son: Método de Adsorción, Elución y Titulación, combinados adsorción-elución. Se emplean Técnicas en salina, albúmina, LISS, Coombs, enzimáticas y de potenciación
5. La frecuencia de anticuerpos irregulares fue: anti-D 42.4%, anti-E 15.2%, anti-K 10.5%, anticuerpos indeterminados 8%, anti-C 6%, anti-M 5%, anti-c, anti-Duffy (a) y anti-P 3.5% cada uno y anti-Lea 2.4%. Los anticuerpos calientes tuvieron una frecuencia del 69% y los anticuerpos fríos 9%. El sexo femenino fue el más predominante con 71% y el sexo masculino 29%. El grupo etario de 37-46 años tuvo el mayor porcentaje 34%. La distribución de los grupos sanguíneos fue: grupo O Positivo 36.5%, O Negativo 34%, A Negativo 12%, A Positivo 10.6%, B Positivo 3.5%, B Negativo 2.4%, AB Positivo 1% y AB Negativo 0%.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

1. Alcaraz -López J. (2005). Inmunohematología: Estudios pretransfusionales en pacientes con anticuerpos irregulares. *Revista Médica del IMSS*. Vol. 43 (Supl 1): 21-24. México.
2. Almuna R. y Carvajal R. (2009). Anticuerpos Irregulares Anti-E. *Revista Obstetra Ginecología - Hospital Santiago Oriente Dr. Luis Tisné Brousse*. Vol. 4 (1): 37-41 Chile.
3. Alonzo B. (2008). *Rastreo piloto de anticuerpos irregulares de pacientes que reciben transfusiones en el Banco de Sangre del Hospital General San Juan de Dios*. Tesis para optar al título de Químico-Biólogo. Universidad de San Carlos de Guatemala.
4. Aragón S., Flores A., y Gómez H. (Enero 2009- Julio 2010). *Frecuencia de Anticuerpos de Grupos Sanguíneos de significancia clínica en donantes*. Tesis para optar al título de Licenciado. UNAN-MANAGUA.
5. Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB). (2007). *Manual Técnico* 15ª Ed.
6. Asociación Argentina de Hemoterapia e Inmunohematología, (2007). *Manual Técnico*. 15ª Ed. Buenos Aires, Argentina.
7. Bastos F. (s. f.). *Anticuerpos irregulares clínicamente significativos y su detección pre transfusional*. División Inmunohematología, Departamento de Hemoterapia e Inmunohematología Hospital de Clínicas “José de San Martín”. Universidad de Buenos Aires, Argentina.

8. Corea T., Caldera F., y Fonseca B. (2007). *Efectos adversos inmunológicos*.
9. Cruz R., García Y., Hernández T. (2007). *Identificación de Aloanticuerpos Irregulares*.
10. Dueñas V., (1999). *Embarazo y transfusión y su asociación con aloanticuerpos inesperados de significancia clínica contra antígenos eritrocitarios*.
11. Importancia de la Serotipificación Completa en donantes. (s. f.). Recuperado de: <http://www.ifcc.org/.../Importancia%20de%20la%20serotipificacion%20compl>
12. Ley № 369. (2001). Ley № 369. *La Gaceta, Diario oficial de Nicaragua*. año CV, № 23. Managua, 1 de Febrero de 2001.
13. LILACS-Reacción hemolítica transfusional tardía ... –Bireme. (s. f.) Recuperado de: <bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?...>
14. López M. (2000). Enfermedad Hemolítica Perinatal. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* 2000; 16(3):161-83. Cuba.
15. Luna J. (2005). Anticuerpos irregulares, su importancia en medicina transfusional. *Rev Med Inst Maex Seguro Soc*. 43(Supl 1):17–20. México. Recuperado de: <http://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2005/ims051e.pdf>
16. Manejo de las reacciones transfusionales-Universidad del ... (s. f.). Recuperado de: [ylang-ylang.uninorte.edu.co:8080/.../REACCIONES\\_TRANSFUSIONA...](ylang-ylang.uninorte.edu.co:8080/.../REACCIONES_TRANSFUSIONA...)
17. Moise K. (2012). Management of rhesus alloimmunization in pregnancy. *Obstetrics & Gynecology*. 100(3):600–11.

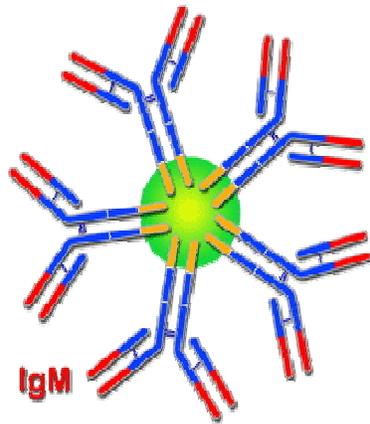
18. Oliveria M., & Gatti, L. (2006). Importance of blood systems rh, lewis, duffy, kell, mns and kidd in multitransfusions. *Revista Brasileira de Hematología e Hemoterapia*, 1-9.
19. Organización Panamericana de la Salud (OPS). (2005). *Estándares de trabajo para Servicios de Sangre*. 3ra. Ed. Washington, D.C.
20. Procedimientos para la detección e identificación de ... (s. f.). REVISTA Vol 20 No4 CORREGIDA.p65 - Universidad de ...
21. Rodríguez M. (2009). Isoinmunización en mujeres entre los años 2006/2007 en el Hospital Virgen de la Arrixaca, Hematología y Hemoterapia. Publicado: 11/10/2009. Recuperado de: [www.portalesmedicos.com](http://www.portalesmedicos.com) 470 x 242
22. Vásquez-Mora G.A. y col., (2002). *Frecuencia de grupos sanguíneos ABO y RH en estudiantes universitarios*. Rev Med Dom DR-ISSN-0254-4504 ADOERBIO 001 Vol. 63 No. 2 Mayo/agosto, 2002
23. [www.laleo.com/medicina-transfusional-p-6422.ht](http://www.laleo.com/medicina-transfusional-p-6422.ht)
24. [www.bvs.sld.cu/revistas/hih/vol16\\_3\\_00/hih02300.htm](http://www.bvs.sld.cu/revistas/hih/vol16_3_00/hih02300.htm)
25. [www.bvs.sld.cu/revistas/hih/vol17\\_2\\_01/hih03201.htm](http://www.bvs.sld.cu/revistas/hih/vol17_2_01/hih03201.htm)
26. [www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&task...](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task...)  
[aprendeonline.udea.edu.co/revistas/index.php/iatreia/article/.../3927](http://aprendeonline.udea.edu.co/revistas/index.php/iatreia/article/.../3927)
27. [www.saludcapital.gov.co/DDS/Documentos%20Red%20Sangre/CARTILLA%20REPORTE%20ESTADISTICO%20STS.pdf](http://www.saludcapital.gov.co/DDS/Documentos%20Red%20Sangre/CARTILLA%20REPORTE%20ESTADISTICO%20STS.pdf)

# ANEXOS

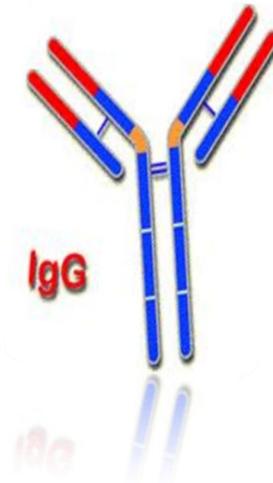
### ANEXO 3

### FIGURAS

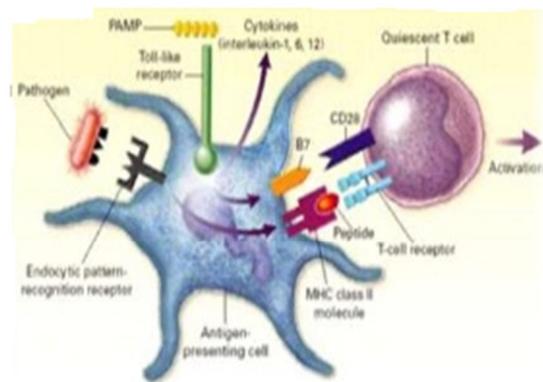
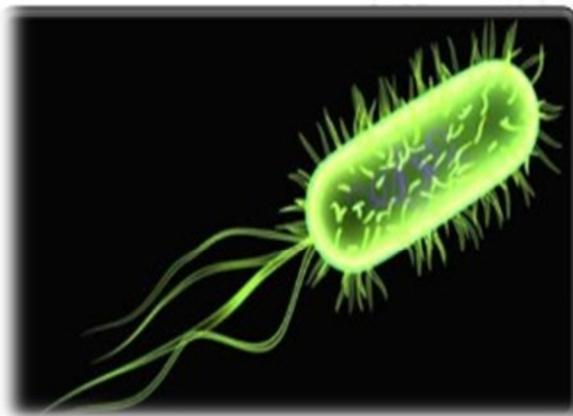
**Figura 1.** Esquemas representativos de los Anticuerpos de Grupos Sanguíneos, Inmunoglobulinas de tipo IgM e IgG.



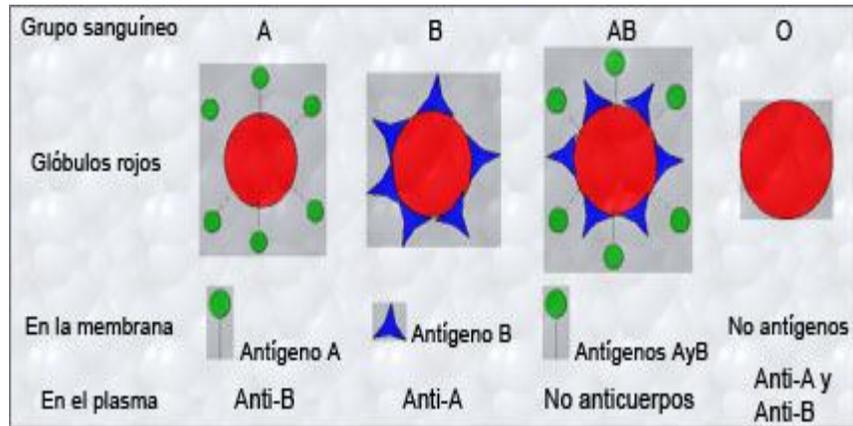
Anticuerpos naturales regulares (A,B,0).



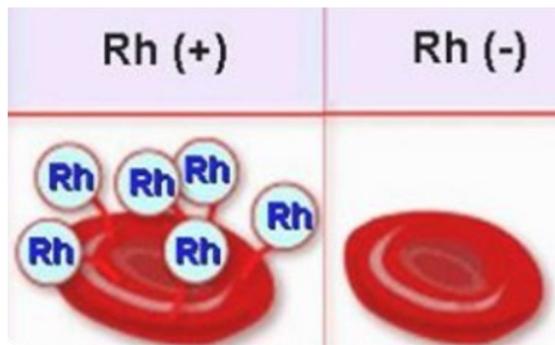
Anticuerpos inmunes irregulares (D...)



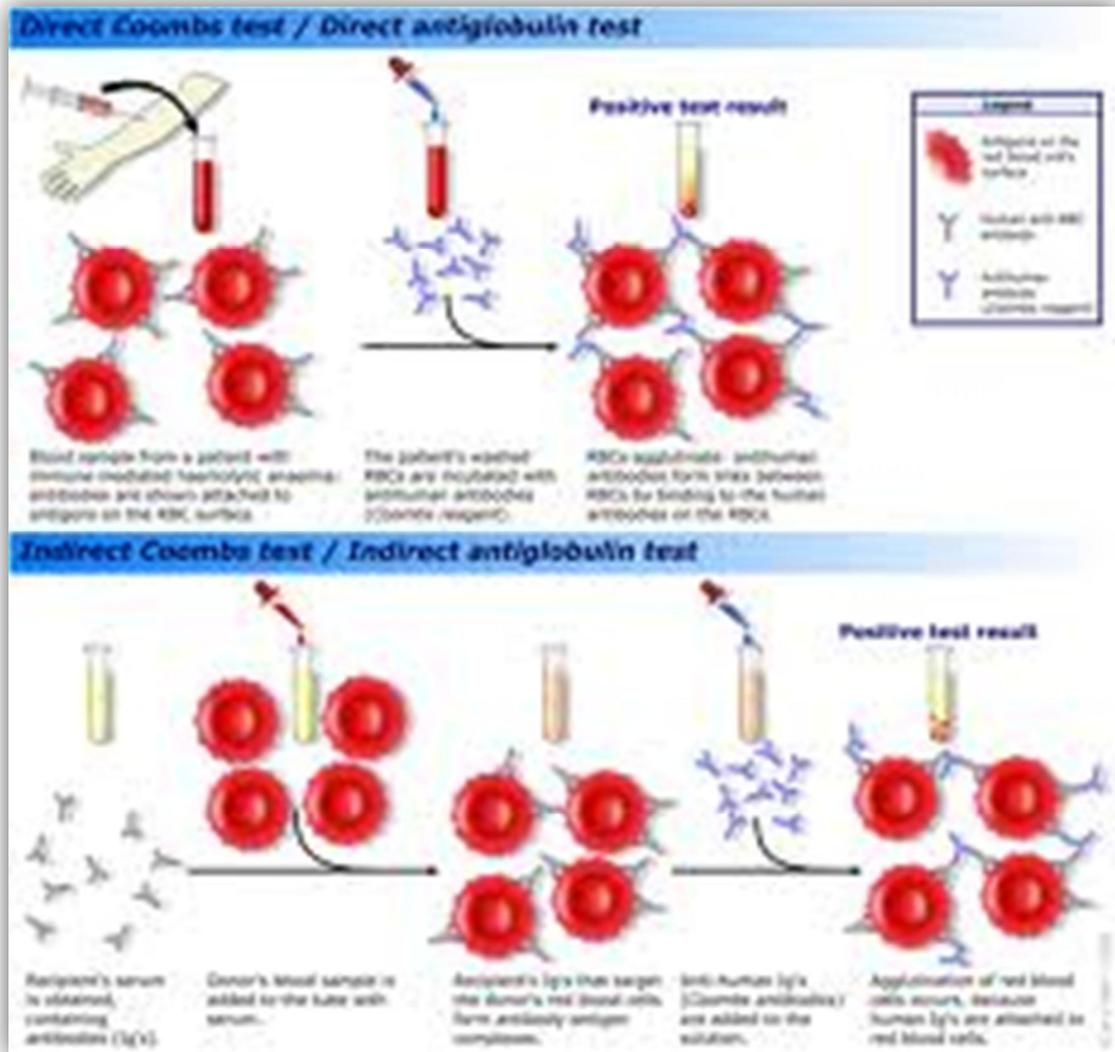
**Figura 2.** Representación Esquemática de los Antígenos y de los Anticuerpos del Sistema de grupo sanguíneo ABO



**Figura 3.** Esquema representativo del Grupo Sanguíneo Rhesus (D). Eritrocito RhD positivo y Eritrocito RhD negativo.



**Figura 4.** Esquema representativo de la Prueba de Coombs Directa e Indirecta utilizada en la detección de anticuerpos irregulares.



## ANEXOS 1

### TABLAS DE RESULTADOS

**Tabla 1.** Frecuencia de anticuerpos de grupos sanguíneos de significación clínica identificados en muestras de donantes voluntarios y por reposición del Centro Nacional de Sangre. Enero 2009-Julio 2010.

Anticuerpos	Frecuencia	Porcentaje
D	36	42.4%
C	5	6.0%
E	13	15.2%
c	3	3.5%
K	9	10.5%
DUFFY(a)	3	3.5%
P	3	3.5%
M	4	5.0%
INDT*	7	8.0%
Lea	2	2.4%
<b>TOTAL</b>	<b>85</b>	<b>100%</b>

Fuente: Archivos del Centro Nacional de Sangre.

\*INDT: Indeterminado.

**Tabla 2.** Anticuerpos de grupos sanguíneos de significación clínica identificados según sexo de donantes voluntarios y por reposición del Centro Nacional de Sangre. Enero 2009-Julio 2010.

Anticuerpos	Sexo			
	Masculino		Femenino	
	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia	Porcentaje
D	4	5%	32	37.6%
C	1	1%	4	5.0%
E	5	6%	8	9.0%
c	1	1%	2	2.4%
K	4	5%	5	6.0%
DUFFY(a)	1	1%	2	2.4%
P	1	1%	2	2.4%
M	1	1%	3	4.0%
INDT*	7	8%	0	0.0%
Lea	0	0%	2	2.4%
<b>Total</b>	<b>25</b>	<b>29%</b>	<b>60</b>	<b>71%</b>

Fuente: Archivos del Centro Nacional de Sangre.

\*INDT: Indeterminado.

**Tabla 3.** Comportamiento según temperatura de reacción de los Anticuerpos de grupos sanguíneos de significación clínica identificados según sexo de donantes voluntarios y por reposición identificados en el Centro Nacional de Sangre. Enero 2009-Julio 2010.

Anticuerpos	Sexo				Total	
	Masculino		Femenino		F	%
	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia	Porcentaje		
Fríos	2	2.4%	7	8.2%	9	10.6%
Calientes	16	19%	53	62.4%	69	81.4%
INDT*	7	8%	0	0.0%	7	8.0%
<b>Total</b>	<b>25</b>	<b>29%</b>	<b>60</b>	<b>71%</b>	<b>85</b>	<b>100</b>

Fuente: Archivos del Centro Nacional de Sangre.

\*INDT: Indeterminado.

**Tabla 4.** Edad de los donantes voluntarios y por reposición que asistieron al Centro Nacional de Sangre. Enero 2009-Julio 2010.

Edad (en años)	Frecuencia	Porcentaje
16-26	22	26.0%
27-36	25	29.4%
37-46	29	34.0%
47-56	7	8.2%
57-65	2	2.4%
<b>TOTAL</b>	<b>85</b>	<b>100%</b>

Fuente: Archivos del Centro Nacional de Sangre.

**Tabla 5.** Distribución de los grupos sanguíneos ABO y Rh(D) según edad de los donantes voluntarios y por reposición que asistieron al Centro Nacional de Sangre. Enero 2009-Julio 2010.

Grupos ABO y RhD	Edad (en años)											
	16-26		27-36		37-46		47-56		57-65		Total	
	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%	F	%
O+	10	12%	8	9%	9	10.6%	3	3.5%	1	1.2%	31	36.5%
A+	1	1.2%	4	5%	3	3.5%	1	1.2%	0	0%	9	10.6%
B+	0	0%	2	2.4%	1	1%	0	0%	0	0%	3	3.5%
AB+	0	0%	0	0%	0	0%	1	1.2%	0	0%	1	1%
O-	6	7%	9	10.6%	12	14%	2	2.4%	0	0%	29	34%
A-	3	3.5%	1	1.2%	5	6%	0	0%	1	1.2%	10	12%
B-	1	1.2%	1	1.2%	0	0%	0	0%	0	0%	2	2.4%
AB-	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%
<b>Total</b>	<b>21</b>	<b>25%</b>	<b>25</b>	<b>29.4%</b>	<b>30</b>	<b>35%</b>	<b>7</b>	<b>8.3%</b>	<b>2</b>	<b>2.4%</b>	<b>85</b>	<b>100%</b>

Fuente: Archivos del Centro Nacional de Sangre.

## ANEXO 2

### FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA, MANAGUA



INSTITUTO POLITÉCNICO DE LA SALUD

“LUIS FELIPE MONCADA”

UNAN-MANAGUA



### FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

La presente ficha tiene el objetivo de recolectar información sobre la frecuencia y tipo de anticuerpos irregulares detectados en donantes que asisten a Cruz Roja Nicaragüense. La información que se brindará será confidencial y se realizará para fines del presente estudio.

1. ¿Poseen base de datos de anticuerpos irregulares detectados?

Si ----- No -----

2. ¿Cuántos casos se han detectado según sexo?

Hombres \_\_\_\_\_ Mujeres \_\_\_\_\_

3. Edades más frecuentes de detección de anticuerpos irregulares

18–30 ----- 31–50 ----- 51 a más -----

4. ¿Qué métodos se utilizan para la detección de anticuerpos irregulares?

5. Tipos de anticuerpos irregulares más frecuentes.

Rh ----- Kell ----- Duffy -----

Lutheran ----- Lewis ----- MNSs -----

Kidd ----- Otros -----

Acs fríos \_\_\_\_\_ acs calientes \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Firma Investigadores