



PRUEBAS PRE-TRANSFUSIONALES EN RECEPTORES

Historia:

1908 Ottenberg “fue el primero en aplicar el descubrimiento de Landsteiner de los grupos sanguíneos a la práctica transfusional, al comprobar como prueba previa a la transfusión, que el suero del receptor no causara lisis y/o aglutinación a los hematíes del donante”.

1945 Coombs, Mourant y Race, aportaron algunas investigaciones sobre el descubrimiento de anticuerpos anti-Rh, y describieron el test de antiglobulina (TAG), que utilizaba un suero antiglobulina humana (AGH), preparado en conejos para detectar anticuerpos Rh incompletos.

Objetivos de las pruebas pre-transfusionales

“Las pruebas pre-transfusionales tienen como propósito evitar que los componentes sanguíneos seleccionados para la terapéutica causen daño en el receptor y asegurar que la sobrevida post-transfusional está dentro de los límites aceptables” (1)

Todos los organismos que regulan la transfusión sanguínea en el mundo tienen sus propias normas y estándares para bancos de sangre (BS) y servicios de transfusión sanguínea (STS) que son de estricto cumplimiento. En Colombia el Decreto 1571 del 12 de Agosto de 1993, establece las normas que regulan la obtención, procesamiento, transporte, y utilización de la sangre y de sus componentes. De igual forma en el país se cuenta con la resolución 901 de 1996 el Manual de Normas Técnicas mediante el cual se lleva a cabo la reglamentación del Decreto mencionado.

Existen procedimientos internacionalmente aceptados como son:

- Solicitudes de transfusión.
- Identificación positiva del receptor y sus muestras de sangre.
- Tipificación de ABO y RhD del receptor.
- Pruebas de detección de anticuerpos anti eritrocitarios clínicamente significativos en el suero y/o plasma del receptor.
- Comparación de los hallazgos actuales con los registros de los resultados previos.
- Confirmación del tipo ABO de los componentes eritrocitarios
- Selección de componentes de tipo ABO Rh apropiados para el receptor.
- Realización de la compatibilidad cruzada.
- Rotulado de los componentes con la información que identifica al receptor. (1)



En el momento de la extracción de la muestra así como cuando se administra el componente, se consideran los momentos más importantes del proceso de la transfusión, ya que los errores en la identificación del paciente son los responsables de la gran mayoría de accidentes transfusionales. Estas reacciones transfusionales tienen una consecuencia fatal. De igual forma se considera que la administración inadvertida de un concentrado de hematíes ABO incompatible como la causa más frecuente de reacción hemolítica mortal. (2)

Solicitudes de Transfusión

Las solicitudes de transfusión podrían formularse por medios electrónicos o manuales. La petición de una transfusión es una prescripción facultativa. La solicitud de transfusión debe contener información suficiente para la identificación del centro hospitalario, el receptor y el médico prescriptor, así como el motivo de la solicitud. Además son muy útiles otros datos como edad, diagnóstico, antecedentes de transfusión y reacción transfusional, plan de uso (extrema urgencia sin prueba cruzada, urgente, al día, cruzar y reservar, cirugía programada).

Los estándares de calidad requieren dos elementos identificatorios independientes que confirmen la identidad del paciente. Estos elementos pueden ser el nombre y apellidos completos, un número único de identificación, la fecha de nacimiento u otro sistema de identificación.

Cada centro debe contar políticas escritas que definan los criterios de aceptación de las solicitudes. No deberían aceptarse pedidos en los cuales la información requerida sea imprecisa, no pertinente o ilegible. (3)

Pueden aceptarse solicitudes telefónicas en situaciones de emergencia, pero deben documentarse cuando la emergencia se supere a través del formato correspondiente.

Para la norma Colombiana es importante: fecha, firma, sello y registro del médico responsable de la solicitud, acorde con el decreto 1571 que dice:

“La transfusión de sangre humana o alguno de sus componentes o derivados constituye un acto propio del ejercicio de la medicina. Por consiguiente, la práctica de tal procedimiento deberá hacerse bajo la responsabilidad de un médico en ejercicio legal de su profesión”. Art. 45 Dec. 1571 de 1993 MNS. (4)



Identificación del Paciente y Muestras

La recolección de una muestra de sangre del receptor potencial, rotulada en forma correcta, es crucial para la seguridad de la transfusión, la mayoría de las reacciones hemolíticas transfusionales resultan de errores en la identificación del paciente y/o muestras (27%) (5)

Figura 1



Tomado De: Sistema Gricode-Hemovigilancia. (6)

Cada institución debe desarrollar e implementar políticas y procedimientos para la identificación de los pacientes y obtención de las muestras.

La mayoría de los hospitales identifican los pacientes con una pulsera de identificación, idealmente, esta debería colocarse en el momento del ingreso y conservarla hasta que sea dado de alta. (Figura 1.)

En la actualidad, la normativa obliga a identificar a la persona responsable de la extracción de la muestra y determinar la fecha y la hora en que ésta ha sido obtenida. No son aceptables las peticiones de sangre que no incluyan la información necesaria o sean ilegibles (2)

Antes de utilizar la muestra para tipificación y pruebas de compatibilidad, se comprobará que toda la información para la identificación de la solicitud esté de acuerdo con la información en el rótulo de la muestra. En caso de discrepancia o duda se tomará una nueva muestra.

Tipo de Muestra

Puede utilizarse suero o plasma. Si la muestra se obtiene de una vía central o periférica en uso, será necesario desechar los primeros 10 ml antes de la extracción de la muestra.

En neonatos de edad inferior a 1 mes, con un sistema inmunológico inmaduro, que responde poco a estímulos antigénicos, se permite la utilización de suero o plasma del niño o de la madre indistintamente para el estudio de anticuerpos irregulares.



El aspecto físico del suero o plasma podría dificultar la detección de hemólisis inducida por anticuerpos. Si es posible, se deben reemplazar las muestras hemolizadas por nuevas muestras. Los resultados de las determinaciones realizadas en suero lipémico también pueden ser problemáticos. (1)

Antigüedad de la muestra

La administración previa de hemoderivados, o el embarazo, puede provocar en los posibles receptores de una transfusión una respuesta inmunitaria primaria o secundaria, que puede ponerse de manifiesto en futuros estudios pretransfusionales. En función de la historia transfusional del paciente, y de la historia obstétrica en el caso de las mujeres, se aconseja que la validez de las muestras sea:

- Para los pacientes que no han sido transfundidos con anterioridad, o han sido transfundidos hace más de seis meses, y mujeres no embarazadas en los últimos seis meses: **pueden utilizarse muestras extraídas una semana antes del acto transfusional, si han sido debidamente almacenadas y conservadas.**
- Para los pacientes que han sido transfundidos en los últimos seis meses, o mujeres con historia de embarazo previo en los últimos seis meses: **pueden utilizarse muestras extraídas hasta dos días antes del acto transfusional, si han sido debidamente almacenadas y conservadas.**
- Pacientes que han sido transfundidos entre tres días antes y el último mes: **se deben utilizar muestras extraídas en las 24 horas previas a la nueva transfusión.**
- Pacientes que han sido transfundidos en las últimas 72 horas: **pueden utilizarse las mismas muestras obtenidas para la transfusión anterior, siempre que no hayan presentado reacciones transfusionales.** (7)



Tabla 1

Tiempo de obtención de muestras para estudios de compatibilidad en función de transfusiones previas	
Pacientes transfundidos entre	Obtención de las muestras
3-14 días	24 h antes de la transfusión
14-28 días	72 h antes de la transfusión
28 días hasta 3 meses	1 semana antes de la transfusión

Tomado de: Begoña Laiz Marro (7)

Las muestras obtenidas para los estudios pre-transfusionales deben almacenarse refrigeradas entre 1-6°C durante un corto período de tiempo (1 semana posterior al acto transfusional); ya que su conservación en dichas condiciones ocasiona problemas del tipo de: lisis de los hematíes, pérdida del complemento en el suero, disminución de la potencia de los anticuerpos eritrocitarios, en especial los de tipo IgM, y una posible contaminación bacteriana de las mismas.

Es fundamental conservar las muestras pre-transfusionales con segmentos de las bolsas transfundidas durante una semana tras la transfusión, para que en el caso de acontecer alguna incidencia transfusional, poder realizar los estudios pertinentes nuevamente y con las mismas muestras almacenadas.

Revisión de registros anteriores

Aporta información sobre:

- Posibilidad de discordancias de grupo
- Actitudes anteriores no reflejadas en la nueva petición (filtración, irradiación)
- Anticuerpos irregulares (es la información más valiosa): Existencia de Acs clínicamente significativos que con el tiempo alcanzan niveles infra serológicos y no se pueden detectar con las pruebas de rutina pero son responsables de reacciones anamnésicas hemolíticas (Jka).

-

Pruebas serológicas:

Los estándares internacionales recomiendan:

- Grupo ABO y Rh del paciente
- Escrutinio de anticuerpos irregulares con un panel de (2-3 células)



- Prueba cruzada o de compatibilidad.

La norma técnica Colombiana exige: “las pruebas de compatibilidad incluyen verificación de la hemoclasificación del donante, determinación del ABO/Rh, rastreo de anticuerpos inesperados en el receptor y la prueba cruzada mayor” (8)

Tipificación ABO y Rh del receptor

Para establecer el tipo ABO del receptor se analizan los glóbulos rojos con reactivos Anti-A y Anti-B, y el suero o plasma con eritrocitos A y B, las técnicas e interpretación y probables discrepancias ya se habló de esos temas en resúmenes anteriores. Aunque cualquier discrepancia debe resolverse antes de administrar la sangre, si la transfusión es urgente, se deben utilizar glóbulos rojos “O”.

Los eritrocitos del paciente también deben evaluarse con Anti-D, con controles adecuados para evitar interpretaciones falsas positivas.

Rastreo o escrutinio de anticuerpos irregulares

El escrutinio de anticuerpos irregulares (EAI) pretende detectar en el receptor la presencia de aloanticuerpos eritrocitarios inesperados (distinto de los anti-A y anti-B). Los aloanticuerpos eritrocitarios están presentes en un 0.3-2% de la población, y las principales causas de su aparición son: embarazo, transfusiones previas y de origen desconocida.

Requisitos de los hematíes utilizados

La recomendación de los estándares es la de utilizar tres tipos de hematíes humanos en suspensión del (3-5% método manual) (0.8-1% Microcolumna) en medio adecuado para su conservación durante un período limitado de tiempo (fijarse siempre en la fecha de caducidad). Los antígenos que poseen los hematíes del frasco I son diferentes a los del frasco II y estos a los del III y vienen especificados claramente por el fabricante. En ocasiones se utilizan solamente dos tipos de hematíes en lugar de tres. (Ver Figuras 2.)

Las principales características deben poseer las células eritrocitarias que se utilizan para el escrutinio de los anticuerpos irregulares son:

- Ser de grupo O, ya que se pretende detectar anticuerpos inesperados (distintos al anti-A y anti- B).



- Su carga antigénica es conocida y se proporciona en paneles. Son positivas para los antígenos de los tipos de sangres más comunes (generalmente aquellos con una frecuencia superior al 8%).
- Deben expresar los siguientes antígenos: C, c, D, E, e, K, k, Fya, Fyb, Jka, Jkb, S, s, M, N, P1, Lea, Leb.
- Ser de donantes que son homocigotos de los genes que producen antígenos que se van a determinar (Rh, Kidd, Duffy, sistema MNS).
- En los laboratorios que se utilizan tres tipos de células, generalmente:
 - o la Célula tipo I es R1R1 (Cde/Cde),
 - o la Célula tipo II es R2R2 (cDE/cDE) y
 - o la Célula tipo III es rr (cde/cde); normalmente sólo un tipo de las tres células es positiva para el antígeno K. (ver mapa antigénico) (7)
 - o

Figuras 2.

Células I y II

Células I II III

Mapa Antigénico Células I II III



Escrutinio de anticuerpos irregulares / Rastreo de anticuerpos irregulares

Fenot Rh	Rh-hr					Kell		Duffy		Kidd		Lewis		P	M N S s				SUERO paciente		
	D	C	E	c	e	K	k	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	Le ^a	Le ^b	P ₁	M	N	S	s			
I CCDde R1R1	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	
II ccDDE R2R2	+	0	+	+	0	+	+	+	0	+	+	0	+	+	+	0	+	+			
III ccdde rr	0	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	0	+	+	0			

Tomado de: Manual del Usuario Grifols (9)

El test o prueba de antiglobulina humana (AGH):

Es la **prueba más importante** que se realiza para detectar anticuerpos anti-eritrocitarios. Dado que los anticuerpos son gammaglobulinas, un anticuerpo puede formar puentes de unión entre hematíes sensibilizados a dicho anticuerpo y una gammaglobulina, y dar origen a una aglutinación de los hematíes. (Figura 3.)

Los anticuerpos fríos tipo IgM pueden aglutinar los glóbulos rojos sin necesidad de agregar ninguna sustancia, mientras que los anticuerpos IgG necesitan de la antiglobulina humana (AHG) para poder generar aglutinación, los mecanismos de la aglutinación ya fueron comentados en los primeros resúmenes.

La AHG o suero de Coombs se encuentra comercialmente de 2 formas:

- AHG poliespecifico que tiene Anti-IgG + Anti-C3d de amplio uso, existen protocolos que lo recomiendan más para evaluar AHG-Directa o Coombs directo. (cualitativo)



- AHG monoespecífico que tiene solo Anti-IgG. La tendencia hoy en día es utilizarlo en los Bancos de Sangre y servicios de Transfusión, para los estudios pretransfusionales mediante la prueba de AGH-Indirecta o Coombs Indirecto.

Métodos de detección de anticuerpos:

Los objetivos de los métodos para detectar anticuerpos irregulares son:

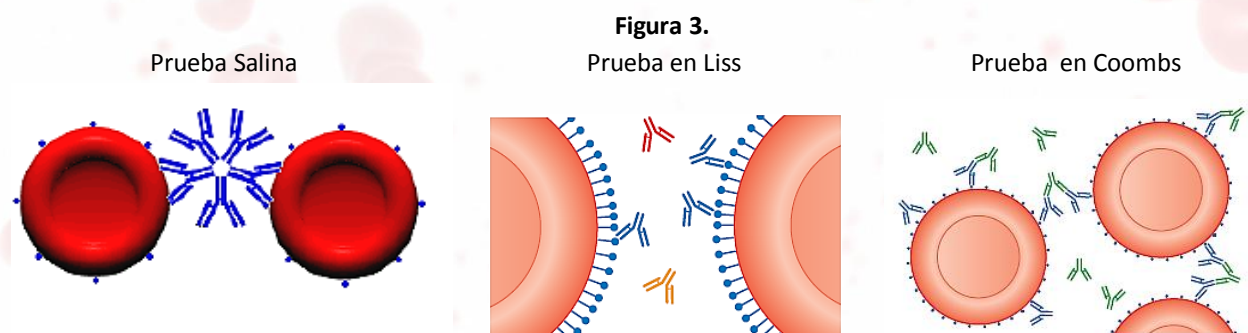
- Detectar la mayor cantidad posible de anticuerpos clínicamente significativos.
- Detectar la menor cantidad de anticuerpos no significativos.
- Completar los procedimientos en un lapso razonable.

Pruebas en solución salina

Las pruebas en solución salina, revelan anticuerpos de tipo IgM y pueden realizarse a diferentes temperaturas (4º C, 15º C, 37º C, y temperatura ambiente). En general los anticuerpos de tipo IgM reaccionan mejor a temperatura de 4º C, si bien alguno de ellos lo hace a 37º C y esto los convierte en anticuerpos clínicamente significativos. (Figura 3)

Pruebas en LISS

Consiste en utilizar una solución salina de una fuerza iónica baja (LISS) en lugar de la solución salina normal, con lo que al disminuir la carga iónica de la solución se aumenta la sensibilidad para detectar los anticuerpos clínicamente significativos más comunes. (Figura 3) Existen otros potenciadores que se usan en inmunohematología: Polietilenglicol (PEG), Polibrene.



Tomado de: Daniels G, Bromilow I (10)

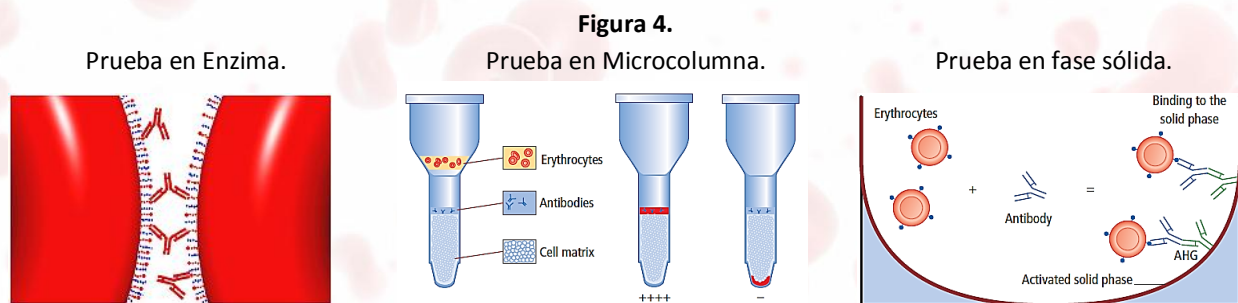


Prueba en Coombs:

Se usa la AHG o antiglobulina de Coombs para poder detectar anticuerpos calientes (37°C) tipo IgG de importancia clínica. Existen básicamente dos métodos: Coombs Directo y Coombs Indirecto (figura 3).

Prueba en enzima:

En esta prueba se utilizan enzimas proteolíticas como sustancia potenciadora disminuyendo el potencial Z y destruye algunos antígenos en membrana y permite reacomodar otros antígenos para detectar anticuerpos IgG frente al sistema Rh, y algunos anticuerpos fríos de tipo IgM clínicamente significativos como anti- Lea, anti-Leb, autoanti-I y anti-P1. (Figura 4.) las enzimas más comúnmente usadas en inmunohematología: ficina, papaina, bromelina y tripsina.



Tomado de: Daniels G, Bromilow I (10)

Prueba en Microcolumna:

Las técnicas de EAI en columnas de gel se basan en la exclusión por tamaño de los hematíes aglutinados en una matriz inerte y se puede realizar de forma automatizada. Es uno de los métodos más empleados en la actualidad en los bancos de sangre por su sencillez y fiabilidad. Es necesario poner atención en la velocidad y el tiempo de centrifugación que debe ser constante. La prueba detecta tanto anticuerpos de tipo IgG como de tipo IgM. Como inconveniente de esta prueba se destaca su alta sensibilidad, que puede dar lugar a falsos positivos. (7)

Pruebas en Fase Sólida:

Se incluyen las denominadas técnicas en Microplaca. Se fundamentan en la adherencia y capacidad que poseen algunos plásticos, para absorber proteínas, que en este caso se trata de



antígenos o de anticuerpos. La adherencia de la IgG al antígeno que previamente se ha fijado en una superficie sólida es detectada por los hematíes revestidos de anti-IgG.

Es una técnica que en la actualidad está completamente automatizada y detecta los anticuerpos de tipo IgG. (Figura 4)

Prueba cruzada:

La prueba cruzada consiste en demostrar “in vitro” que una sangre no va a ser perjudicial “in vivo” para el paciente. Seleccionaremos de nuestro “stock” una unidad de sangre del mismo grupo ABO ó compatible con el grupo del paciente y debe hacerse una prueba cruzada completa con técnica de antiglobulina.

Si el escrutinio nos ha dado un resultado positivo y hemos podido identificar el anticuerpo causante, debemos seleccionar una unidad de sangre del mismo grupo ABO ó compatible con el paciente y que carezca del antígeno contra el que el enfermo tiene anticuerpos.

Por ejemplo: Para un paciente con un anticuerpo en su suero anti-Jka del grupo A, podemos seleccionar sangre A Jk(a -) ó O Jk (a -) en caso de no disponer de sangre fenotipada isogrupo. (2)

Selección de componentes sanguíneos. Compatibilidad ABO y Rh

Siempre que se pueda se transfundirá isogrupo ABO. Cuando la transfusión iso-ABO no sea posible, se transfundirá según la compatibilidad antígeno-anticuerpo de acuerdo al siguiente esquema: (Tabla 2.)

Tabla 2.

HEMATIES		PLAQUETAS		PLASMA	
Grupo Receptor	Grupo CH	Grupo Receptor	Grupo PLQ	Grupo Receptor	Grupo PL
O	O	O	O, A, B, AB	O	O, A, B, AB
A	A, O	A	A, AB, O, B	A	A, AB
B	B, O	B	B, AB, O, A	B	B, AB
AB	AB, A, B, O	AB	AB, A, B, O	AB	AB

Tomado de: Dra. Anna Ester Condins (2)



Los receptores Rh negativo recibirán derivados Rh negativo salvo en circunstancias razonablemente justificadas. Los receptores Rh positivo pueden recibir componentes sanguíneos Rh positivo o negativo. Para la transfusión de plasma no es necesario tener en consideración el grupo Rh. (2)

Confirmación de grupo en Donantes:

Antes de la transfusión se debe efectuar una prueba serológica para confirmar el grupo ABO y Rh de todas las unidades de eritrocitos. No son necesarias pruebas confirmatorias de D débil. Estas pruebas confirmatorias se deben realizar en una muestra de un segmento de la tubuladura de la unidad. (1)

Referencias:

1. Manual Técnico, "Pruebas Pretransfusionales". American Association of Blood Banks. Ed 15, 2005.
2. Dra. Anna Ester Condins. Unidad didáctica 2: Pruebas pretransfusionales y administración de componentes sanguíneos Banc de Sang i Teixits. Badalona .España 2006.
3. Silva MA, ed. Standards for Blood Banks and transfusión services. 23 ed. Bethesda 2005.
4. Decreto Número 1571 DE 1993 diario oficial. año CXXIX. N. 40989. 12, AGOSTO, 1993. PAG. 8
5. Paula HB Bolton-Maggs y Hannah Cohen. "Riesgos graves de Transfusión (SHOT) hemovigilancia y el progreso está mejorando la seguridad transfusional" Br J Haematol. 11 2013; 163 (3): 303-314.
6. Ana González Bach. Sistema Gricode. BST Girona 2009.
7. Begoña Laiz Marro, Elías Aguilar Ligorit "Estudios Pretransfusionales". Compendio de medicina transfusional. Comunidad Valenciana p- 19- 2004.
8. Manual de Normas Técnicas. Res. N° 00901 de 1996 Capitulo 7 Transfusión Sanguínea 7.1.3 Pruebas de compatibilidad. MSP. 1996.
9. Manual del Usuario Grifols. Reactivos Eritrocitarios. Barcelona 2012.
10. Daniels G, Bromilow I. Essential guide to blood groups. 2nd ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2010.