

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE MEDICINA

CARRERA DE BIOQUÍMICA CLÍNICA

**DISERTACIÓN PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE BIOQUÍMICA
CLÍNICA**

**PRESENCIA DE HEMOLISINAS ANTI-A Y ANTI-B EN CONCENTRADOS DE
PLAQUETAS OBTENIDAS DE DONANTES DE SANGRE DE GRUPO
SANGUÍNEO “O” EN EL BANCO DE SANGRE DEL HOSPITAL CARLOS
ANDRADE MARÍN EN EL AÑO 2019**

SANDY CAROLINA JÁCOME MANCHENO Y

MELBA NOEMÍ LÓPEZ MOLINA

MTR. ROSA CHIRIBOGA PONCE


QUITO, 2019

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Melba Noemí López Molina, C.I. 131306437-8; autora del trabajo de graduación intitulado: Presencia de hemolisinas anti-A y anti-B en concentrados de plaquetas obtenidas de donantes de sangre de grupo sanguíneo "O" en el Banco de Sangre del Hospital Carlos Andrade Marín en el año 2019, previa a la obtención del grado académico de BIOQUÍMICA CLÍNICA en la Facultad de Medicina-Carrera de Bioquímica:

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través de sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de la Universidad.



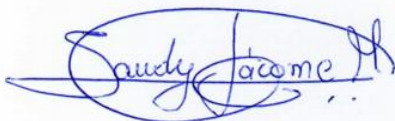
Melba Noemí López Molina, C.I. 131306437-8

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Sandy Carolina Jácome Mancheno, C.I. 171545277-5; autora del trabajo de graduación intitulado: Presencia de hemolisinas anti-A y anti-B en concentrados de plaquetas obtenidas de donantes de sangre de grupo sanguíneo "O" en el Banco de Sangre del Hospital Carlos Andrade Marín en el año 2019, previa a la obtención del grado académico de BIOQUÍMICA CLÍNICA en la Facultad de Medicina-Carrera de Bioquímica:

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través de sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de la Universidad.

A handwritten signature in blue ink that reads "Sandy Jácome". The signature is stylized and includes a large flourish at the end.

Sandy Carolina Jácome Mancheno, C.I. 171545277-5

DEDICATORIA

Mi sentir de hija, hace que todos los conocimientos adquiridos los convierta en amor y los dedique especialmente a mis padres Carlos y Gioconda, porque gracias a ellos tuve el apoyo necesario y confianza para culminar con éxito esta etapa de mi vida. Reconozco que ha sido grande vuestro sacrificio y preocupación.

A mis abuelitos por ser pilar fundamental en construir con bases sólidas mi preparación estudiantil, quienes también me encomendaban a Dios y con palabras de aliento no me dejaban desmayar nunca, ni desviarme del objetivo planteado.

A mi hermana María Belén y amigos Jorge y Sandy, quienes fueron incondicionales en este largo camino, compartiendo conocimientos, alegrías y tristezas.

Por último sin ser menos importante a José que con su paciencia y apoyo día tras día, me demostró que con esfuerzo se logran culminar grandes cosas.

Melba López Molina

DEDICATORIA

Esta tesis la dedico a Dios, quien supo guiarme por el camino correcto, proporcionarme día a día la fortaleza necesaria para salir adelante y no desmayar en los momentos difíciles, superando obstáculos y enseñándome a encarar las adversidades sin decaer en mi propósito;

A mi papi Rodri, a mis padres Paquita y Carlos, quienes supieron brindarme todo su apoyo durante mi carrera estudiantil y mi preparación académica, sus consejos, comprensión y amor en los momentos difíciles, habiendo sembrado en mí valores y principios basados en la honestidad, integridad moral, rectitud y lealtad, cualidades que han formado mi carácter, permitiéndome con empeño y perseverancia alcanzar las metas que me he propuesto;

A mi hermano Fernando, porque su presencia siempre constituyó en el respaldo y ejemplo académico a seguir;

A Santiago, que con su cariño y bondad, supo compartir sus valiosos conocimientos y experiencias en la materia que representa para nosotros motivación e inspiración de estudio;

A Melba, mi amiga y compañera de camino y sueños; y a todos quienes me acompañaron durante mi ámbito estudiantil, en esta maravillosa etapa de mi vida.

Sandy Jácome M.

AGRADECIMIENTO

La vida se encuentra plagada de retos, y uno de ellos es nuestra formación académica, constituyéndose la Universidad en la fuente inagotable del conocimiento, y en base firme que sustenta el intelecto de quienes hemos hecho de ella un templo del saber, viéndonos inmersos día a día en la inmensidad de la instrucción, educación y sapiencia, valores que destacaremos a cada instante en el desarrollo de nuestra vida personal y profesional.

Al concluir esta etapa en la vida estudiantil, queremos presentar nuestro agradecimiento imperecedero a la prestigiosa Pontificia Universidad Católica del Ecuador, a sus directivos, personal docente y administrativo; y a nuestros maestros que supieron brindarnos y compartir sus conocimientos, experiencia y sabiduría, de manera especial a nuestra directora de tesis Mtr. Rosa Chiriboga Ponce que asumió el reto de guiarnos, como de colaborarnos para que nuestro proyecto de investigación sea relevante y culminado airoosamente, a la vez a nuestros lectores Mtr. Oscar Puente y Dra. Julia Soria.

Mención de reconocimiento y gratitud, para el Banco de Sangre del Hospital Carlos Andrade Marín, quienes con su apertura y valioso apoyo, se constituyeron en factor fundamental en el desarrollo de nuestra tesis.

A nuestros padres quienes son los promotores principales de nuestros sueños y que con su apoyo desmesurado se ve cristalizada esta meta, ya que ellos merecen un galardón así, duradero.

Melba y Sandy

RESUMEN

Título de la disertación: *Presencia de hemolisinas anti-A y anti-B en concentrados de plaquetas obtenidas de donantes de sangre de grupo sanguíneo "O" en el Banco de Sangre del Hospital Carlos Andrade Marín en el año 2019.*

Introducción: Los concentrado de plaquetas CPQ son hemocomponentes producidos a partir de sangre total y generalmente son resuspendidas en plasma del donante, el mismo que contiene de forma natural anticuerpos anti-A y/o anti-B que se van a producir en ausencia del antígeno correspondiente. Los anticuerpos producidos son de isotipo IgM, sin embargo, el sistema inmune puede estimular la producción de anticuerpos "inmunes o hemolisinas" de isotipo IgG las que al contacto con los eritrocitos del paciente de grupo sanguíneo diferente pueden ocasionar destrucción y reacciones adversas durante una transfusión incompatible. **Materiales y Métodos:** El presente estudio fue de tipo observacional, descriptivo de corte transversal, se analizó la titulación de hemolisinas anti-A y anti-B en sueros de los concentrados de plaquetas (CPQs) de grupo "O", mediante diluciones seriadas dobladas con solución salina hasta 1/64 (IgM) y 1/128 (IgG) en metodología en tubo y gel. Para la determinación de IgM se utilizó tarjetas de gel salino (LISS/Coombs), para IgG se empleó tarjetas monoespecíficas con anti-globulina IgG (Coombs anti-IgG). **Resultados:** En una población seleccionada al azar de 308 donantes de grupo "O" se determinó una prevalencia de 31,8 % y 28,9 % de hemolisinas IgM anti-A y anti-B con un título de 1/256 respectivamente; mientras que la mayor frecuencia de hemolisinas anti-B IgG fue en el título de 1/64 con un porcentaje de 47.4 %. Existió una relación estadísticamente significativa entre la presencia de hemolisinas de isotipo IgG y el género femenino ($p < 0.005$). El estudio de la relación entre el desarrollo de hemolisinas y embarazos ($p = 0.006$), abortos ($p = 0.003$) para IgG fue significativa, al igual que la ingesta de probióticos con las hemolisinas de isotipo IgM ($p < 0.005$). **Conclusiones y Recomendaciones:** La producción de títulos elevados de hemolisinas se relaciona con las variables del estudio tanto las de isotipo IgG como IgM, por lo que se recomienda que en lo posible deben transfundirse CPQ isogrupo. Al determinar la presencia de títulos elevados de hemolisinas la literatura recomienda que sean transfundidos a pacientes de grupo sanguíneo "O". Finalmente tomar en consideración las variables que obtuvieron una relación estadísticamente significativa para ser incluidas en la entrevista de selección del donante.

Palabras clave: hemolisinas anti-A y anti-B, hemolisinas IgG e IgM, título de hemolisinas, donantes, reacción hemolítica post-transfusional.

ABSTRACT

Title: *Presence of anti-A and anti-B hemolysins in platelet concentrates obtained from blood donors group O at the Blood Bank of the Carlos Andrade Marín Hospital in 2019.*

Introduction: Platelets express on the surface carbohydrates of the ABO group, this hemocomponent is produced from whole blood is generally resuspended in the donor's plasma, which naturally contains anti-A and anti-B antibodies that will be produced in absence of the corresponding antigen. The antibodies produced are of the IgM type, however, the immune system can stimulate the production of "immune antibodies or hemolysins" of the IgG isotype which upon contact with the erythrocytes of the patient of different blood group can cause destruction and adverse reactions during an incompatible transfusion. **Materials and Methods:** The present study was an observational, descriptive and cross-sectional study, the titration of anti-A and anti-B hemolysins were analyzed in the serum of platelet concentrates of group "O", where serial and doubled dilutions were prepared using saline solution, up to 1/64 (IgM) and 1/128 (IgG) with tube technique and gel cards. For the determination of IgM saline gel card (LISS / Coombs) were used, for IgG, monospecific cards with anti-globulin IgG (Coombs Anti-IgG) were used. **Results:** In a randomly selected population of 308 "O" group donors, a prevalence of 31.8 % and 28.9 % of anti-A and anti-B IgM hemolysins was determined in a titer of 1/256 respectively; while the highest frequency of anti-B IgG hemolysins was in the titer of 1/64 with a percentage of 47.4 %. There was a statistically significant relationship between the presence of IgG-isotype hemolysins and the female gender ($p < 0.005$). The study of the relationship between the development of hemolysins and pregnancies ($p = 0.006$), abortions ($p = 0.003$) with IgG was significant, as well as the intake of probiotics with the hemolysins of IgM isotype ($p < 0.005$). **Conclusions and Recommendations:** The production of high hemolysin titers is related to the study variables, both IgG and IgM, so it is recommended to transfuse platelet concentrates from the same type. When determining the presence of high hemolysin titers, the literature recommends that they be transfused to blood group "O" patients. Finally, consider the variables that obtained a statistically significant relationship to be included in the donor selection interview.

Key words: anti-A and anti-B hemolysins, IgM and IgM hemolysins, hemolysin titers, donors, post-transfusion hemolytic reaction.

TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN.....	vi
ABSTRACT	vii
LISTA DE TABLAS	x
LISTA DE GRÁFICOS	xi
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE ANEXOS.....	xiii
LISTA DE SIGLAS.....	xiv
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I.....	3
1.1 JUSTIFICACIÓN.....	3
1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	4
1.3 OBJETIVOS.....	6
1.3.1 OBJETIVO GENERAL	6
1.3.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS	6
1.3.3 LIMITACIÓN DEL ESTUDIO.....	6
CAPÍTULO II.....	7
2.1 MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL.....	7
2.1.1 Antecedentes.....	7
2.1 MARCO TEORICO	8
2.1.1. Sistema ABO	8
2.1.2 Anticuerpos del sistema ABO.....	10
2.1.3 Producción de hemolisinas anti-A y anti-B	11
2.1.4 Plaquetas transfusión y grupo ABO	11
2.1.5 Concentrados Plaquetarios.....	12
2.1.6 Criterios de transfusión de concentrados plaquetarios	15
2.1.7 Reacciones post–transfusionales por incompatibilidad plaquetaria	17
2.2 MARCO CONCEPTUAL	19
CAPÍTULO III.....	21
3.1 MARCO METODOLÓGICO	21

3.1.1 MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
3.1.1.1 Tipo de Estudio.....	21
3.1.1.2 Tipo de Muestreo.....	21
3.1.1.3 Tamaño de Muestra.....	22
3.1.1.4 Criterios de Inclusión.....	23
3.1.1.5 Criterios de Exclusión.....	23
3.1.1.6 Análisis Estadístico.....	23
3.2 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....	25
3.2 MATERIALES Y PROCESO.....	33
3.2.3 Control de Calidad.....	33
3.3 PROCEDIMIENTO.....	34
3.3.1 Fase Uno: Solicitudes, permisos, aprobaciones y autorizaciones.....	34
3.3.2 Fase Dos: Recolección de información y consentimiento informado.....	34
3.3.3 Fase Tres: Recolección de alícuota de muestra biológica y preparación previa al análisis.....	35
3.3.4 Fase Cuatro: Análisis por el laboratorio.....	36
3.3.5 Base de datos: Registro de la información y análisis de resultados.....	36
3.3.6 RESULTADOS: Reporte de resultados.....	37
CAPÍTULO IV.....	38
4. CONTROL DE CALIDAD.....	38
CAPITULO V.....	40
5. RESULTADOS.....	40
5.1 DISCUSIÓN.....	55
5.2 CONCLUSIONES.....	59
5.3 RECOMENDACIONES.....	59
5.4 BIBLIOGRAFÍA.....	61
5.5 ANEXOS.....	65

LISTA DE TABLAS

Tabla 1 Comparación de los requisitos para el control de calidad de los hemocomponentes por la AABB, la FDA y el Consejo de Europa.....	15
Tabla 2 Reacciones plaquetarias por incompatibilidad ABO	18
Tabla 3 Criterios para control de calidad de tarjetas Coombs anti-IgG y de gel salino	38
Tabla 4 Índice Kappa de concordancia en lecturas de positividad en geles anti-IgM e IgG.....	39
Tabla 5 Criterios para control de calidad de células A1B	39
Tabla 6 Descripción de la población de acuerdo con el género	40
Tabla 7 Relación del género y presencia de anti-A y anti-B de isotipo IgM	45
Tabla 8 Relación del género y la presencia de anti-A y anti-B de isotipo IgG.....	46
Tabla 9 Presencia de hemolisinas anti-A y anti-B de isotipo IgG en donantes que reportan embarazos previos	47
Tabla 10 Presencia de hemolisinas anti-A y anti-B de isotipo IgG en donantes que reportan abortos	48
Tabla 11 Presencia de hemolisinas anti-A y anti-B isotipo IgG en donantes que reportan transfusiones de componentes sanguíneos	49
Tabla 12 Tipo de hemocomponente recibido y título de hemolisinas anti-A y anti-B de isotipo IgG e IgM.....	50
Tabla 13 Relación entre los títulos de anti-A y anti-B IgM con la ingesta de probióticos ..	51

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Edad de donantes de Concentrado de Plaquetas	40
Gráfico 2. Distribución de hemolisinas anti-A y B IgM de acuerdo con la titulación	41
Gráfico 3. Distribución de frecuencias de hemolisinas anti-A y anti-B IgG de acuerdo a la titulación.....	42
Gráfico 4. Coexistencia de hemolisinas anti-A, isotipo IgM-IgG de acuerdo al título.....	43
Gráfico 5. Coexistencia de hemolisinas anti-B, isotipo IgM-IgG de acuerdo al título.....	44
Gráfico 6. Relación entre edad y hemolisinas anti-A IgM.....	52
Gráfico 7. Relación entre edad y hemolisinas anti-A IgG.....	53
Gráfico 8. Relación entre edad y hemolisinas anti-B IgM.....	54
Gráfico 9. Relación entre edad y hemolisinas anti-B IgG	54

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Antígenos del Sistema ABO.....	9
Figura 2 Grupo Sanguíneo.....	10

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1: Determinación de IgG e IgM en tarjetas de gel	65
Anexo 2: Consentimiento informado	67
Anexo 3: Cuestionario.....	70
Anexo 4: Certificado de calibración de pipetas.....	71
Anexo 5: Determinación de hemolisinas anti-A y anti-B con células ABO	73
Anexo 6: Carta de interés del Banco de Sangre del HCAM	74
Anexo 7: Aprobación del Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos-PUCE y HCAM.....	75
Anexo 8: Aprobación de la investigación por parte de la Dirección Nacional de Inteligencia de la Salud – DNIS del Ministerio de Salud Pública	77
Anexo 9: Desecho de material biológico	78
Anexo 10: Proceso de Estudio.....	79

LISTA DE SIGLAS

AABB: Asociación Americana de Bancos de Sangre.

CGR: Concentrado de glóbulos rojos.

CPQ: Concentrado plaquetario.

HCAM: Hospital Carlos Andrade Marín.

IgA: Inmunoglobulina A.

IgG: Inmunoglobulina G.

IgM: Inmunoglobulina M.

IHTR: Reacciones hemolíticas transfusionales intravasculares.

PRP: Plasma rico en plaquetas

INTRODUCCIÓN

En el Ecuador de 17'328.654 de habitantes (INEC, 2019), donan sangre aproximadamente 1,5 % de personas al año (Cruz Roja Ecuatoriana, 2018). La donación de sangre es un procedimiento por medio del cual una persona de forma voluntaria permite la extracción de 450mL de sangre, para luego obtener mediante fraccionamiento por medios mecánicos (centrifugación a cierta velocidad y tiempo) varios hemocomponentes como: concentrado de glóbulos rojos, plaquetas y plasma, lo que quiere decir que de una donación, obtenemos tres hemocomponentes. Cabe recalcar que estos son fundamentales para el tratamiento de enfermedades, en caso de emergencias, cirugías, partos complicados, etc. (Miño Lara, 2016)

Previamente a la donación de sangre, el presunto donante es sometido a un proceso llamado tipaje de la sangre, el cual consiste en identificar el grupo sanguíneo y clasificarlo como: "A", "B", "AB" y "O", de esta manera los hemocomponentes son también clasificados y transfundidos de acuerdo al grupo sanguíneo de los receptores. En el caso de concentrados de plaquetas no ocurre lo mismo, ya que se transfunden sin tomar en consideración el grupo sanguíneo, lo que ha sido objeto de cuestionamientos en la salud del paciente que reciba estas plaquetas. En los bancos de sangre y servicios de medicina transfusional generalmente se producen y transfunden CPQ de grupo "O" a receptores A, B y AB.

La relevancia de las transfusiones sanguíneas con el grupo sanguíneo ABO, se da por la aparición de anticuerpos dirigidos contra el antígeno que se carece. Las personas de grupo sanguíneo A, poseen anticuerpos naturales anti-B, las personas de grupo sanguíneo B, desarrollan anticuerpos naturales anti-A, los individuos de tipo sanguíneo AB no expresan anticuerpos A ni B, pero los individuos de tipo "O" producen anti-A y anti-B (Wolfram, Sauerwein , Binder, Eibl-Musil, Wolf, & Fischer, 2016).

Los anticuerpos anti-A o anti-B se originan de forma natural en individuos de grupo sanguíneo "O", sin embargo pueden convertirse en hemolisinas luego de una estimulación inmune a ciertos antígenos a los que se expone como: embarazo, partículas de polen, alimentos, probióticos, bacterias y virus dando lugar a la generación de estos anticuerpos (Berséus, Boman, Nessen, & Westerberg., 2013). Estos generalmente son de isotipo IgM, sin embargo, el sistema inmune puede estimular la producción de anticuerpos "inmunes o hemolisinas" de isotipo IgG, las que al contacto con los eritrocitos del paciente de grupo

sanguíneo A o B pueden ocasionar destrucción y reacciones adversas durante la transfusión de estos concentrados plaquetarios de tipo O. Las hemolisinas que causan estas reacciones en el receptor son aquellas que se encuentran en títulos elevados, para los isotipos IgM $>1/64$ y para IgG $>1/256$. (Bendezú Ibarra, 2015).

A lo largo del tiempo se han realizado varios estudios en relación a la presencia de las hemolisinas generando controversia entre su inocuidad o perjuicio a la salud del paciente, por lo que es necesario determinar su presencia en los CPQ de grupo sanguíneo "O" así como su concentración para prevenir reacciones adversas como escalofríos, debilidad o hemólisis por destrucción de los glóbulos rojos en receptores con grupo sanguíneo A o B, sin embargo otros autores mencionan que no amerita su detección por no reportarse casos adversos, determinándose que a mayor título de anticuerpos la reacción hemolítica es severa y que a títulos bajos el organismo es capaz de diluir estas sustancias y atenuar el efecto (Berséus, Boman, Nessen, & Westerberg., 2013; Josephson, Mukllis, Van Demark, & Hillye, 2004).

CAPÍTULO I

1.1 JUSTIFICACIÓN

Los concentrados plaquetarios (CPQ) son componentes sanguíneos utilizados para la prevención o tratamiento de hemorragias, sean estas ocasionadas por una disminución o defecto en la estructura y funcionabilidad de las plaquetas. A pesar de que estos componentes sanguíneos se obtienen a partir de sangre total de donantes voluntarios que cumplen ciertos criterios de selección, se desconoce si presentan hemolisinas en elevada concentración que puedan ocasionar graves reacciones transfusionales. Las hemolisinas o isoaglutininas que pueden producir la lisis de los eritrocitos del paciente son aquellas que se encuentran en títulos elevados, se ha definido $>1/64$ para los isotipos IgM y $>1/256$ para los isotipos IgG presentes en los CPQ de grupo "O" y que son transfundidos a pacientes con grupos sanguíneos A, B y AB (Bendezú Ibarra, 2015).

Los donantes voluntarios de grupo sanguíneo "O" se caracterizan por presentar en su sangre anticuerpos anti-A y anti-B de forma natural en bajas concentraciones generalmente en títulos $\leq 1/64$, sin embargo pueden convertirse en hemolisinas luego de una estimulación inmune en ciertas circunstancias como embarazos con incompatibilidad ABO, transfusiones sanguíneas previas o ingesta de probióticos (Berséus, Boman, Nessen, & Westerberg., 2013). A lo largo del tiempo se han realizado varios estudios relacionados a la presencia de las hemolisinas concluyendo de esta manera que es necesario analizar los CPQ de grupo sanguíneo "O" en busca de estas sustancias para prevenir reacciones post-transfusionales, sin embargo otros autores mencionan que no amerita su detección por no reportarse casos adversos, determinándose que a mayor título de anticuerpos la reacción hemolítica es severa y que a títulos bajos el organismo es capaz de diluir estas sustancias y atenuar el efecto (Berséus, Boman, Nessen, & Westerberg., 2013); (Josephson, Mukllis, Van Demark, & Hillye, 2004); (Karafin, Blagg, Tobian, King, Ness, & Savage, 2012).

En Ecuador, el 75% de la población es de grupo sanguíneo "O" (Cruz Roja Ecuatoriana, 2018), siendo éste el de mayor oferta en los bancos de sangre y el que es utilizado para la producción de concentrados plaquetarios debido a la urgencia con la que se requieren estos componentes. Este concentrado plaquetario es transfundido a pacientes de diferentes grupos sanguíneos sin realizar una investigación previa de la existencia de hemolisinas A ó B de isotipo IgM e IgG que permita determinar su severidad. (Berséus, et.al., 2013).

Otro aspecto importante es el proceso de hemovigilancia que constituye el reporte e investigación de reacciones adversas durante y después de una transfusión de componentes sanguíneos, el mismo que en algunos países latinoamericanos incluyendo Ecuador no está aún bien establecido. La Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB) organismo de acreditación internacional, sugiere que los servicios de transfusión deben establecer políticas relativas a la transfusión de componentes sanguíneos con incompatibilidad ABO (Quillen, Sheldon, & Flegel, 2013), ya que el desconocimiento de reacciones hemolíticas o febriles luego de la transfusión debido a la falta de seguimiento o reporte adecuado y oportuno de las posibles causas, impiden la toma de acciones correctivas y de mejora.

Con estos antecedentes es relevante la realización de este estudio que será un aporte importante tanto para los donantes, pacientes y el Sistema Nacional de Sangre apoyando así a la implementación de mejores estrategias de transfusiones seguras e inocuas.

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En medicina transfusional las personas tipificadas como grupo sanguíneo “O” son consideradas como donadores universales, es decir que el Concentrado de Glóbulos Rojos (CGR) puede ser transfundido a todos los grupos sanguíneos y que además sean compatibles con el Factor Rh, lo que no aplica para el plasma, debido a que pueden presentar hemolisinas anti-A y anti-B en elevadas concentraciones, las que reaccionan al entrar en contacto con la sangre no compatible ocasionando reacciones hemolíticas graves (Berséus, et.al., 2013). Debido a esto, surge la controversia si debe ser utilizado el CPQ grupo “O” en pacientes tipificados como A, B y AB sin causar reacciones transfusionales.

A pesar de que el uso de CPQ de grupo “O” es generalizado, se han reportado casos de pacientes que han sufrido una reacción hemolítica severa luego de una transfusión de CPQ (grupo ABO) incompatible (Berséus, et.al., 2013), a causa de la concentración de hemolisinas A y B.

Zoe y colaboradores (1976) identificaron que al transfundir plaquetas tipo O resuspendidas en 500 mL de plasma a un paciente con leucemia de grupo AB, presentó una reacción transfusional severa; en la revisión del registro médico constaba que el paciente había sido previamente transfundido con un CGR de grupo sanguíneo AB idéntico, y al realizar el

seguimiento, determinaron la presencia de un anti-AB adquirido por la transfusión del CPQ "O". (Berséus, et.al., 2013).

Los anticuerpos A y B IgM son isoaglutinas naturales en las personas de grupo sanguíneo "O", sin embargo, los anticuerpos anti-A y B de isotipo IgG pueden desarrollarse luego de recibir una transfusión sanguínea incompatible, durante el embarazo o vacunación, produciéndose como resultado anticuerpos de tipo inmune o adquiridos (Oyedeggi, Adeyemo, Ogbenna, & Akanmu, 2015). La presencia de estos anticuerpos depende si la persona ha sido expuesta y ha respondido a los antígenos que carece produciendo isoaglutininas de isotipo IgG consideradas inmunes (Alberto, 2009).

En los bancos de sangre ecuatorianos no se realiza la titulación de hemolisinas, lo que se investiga es la presencia de anticuerpos irregulares contra sistemas eritrocitarios diferentes al sistema ABO, por lo que la identificación de hemolisinas en concentrados de plaquetas grupo "O", facilitará la detección de componentes sanguíneos perjudiciales para el receptor de grupo A, B y AB.

La investigación realizada por Josephson en 100 donantes de sangre grupo "O", determinó un título de 1/64 para anticuerpos de isotipo IgM y 1/256 para IgG, con estos resultados se clasificó al 39 % de donantes como peligrosos para producir una reacción hemolítica severa (Josephson, Mukllis, Van Demark, & Hillye, 2004), adicionalmente el estudio de Berséus y colaboradores determinó que existe un 0,05 % de probabilidad de una reacción hemolítica severa luego de recibir una trasfusión de CPQ incompatible AB (Berséus, et. al., 2013).

A pesar que los investigadores poseen criterios opuestos acerca de las reacciones transfusionales, es necesario realizar este estudio en el país, y de esta manera determinar si existe la presencia de inmunoglobulinas de isotipo IgG (inmunes y transplacentarias) e isotipo IgM (naturales). El título de anticuerpos para este estudio se define como la dilución más alta de plasma que produzca aglutinación visible macroscópicamente en pruebas de gel, frente a células de grupo A ó B y detecten anticuerpos de isotipo IgM en 1/64 y anticuerpos de isotipo IgG 1/256 (Josephson, Mukllis, Van Demark, & Hillye, 2004). El detectar la presencia de títulos elevados de hemolisinas, es equivalente a producir una respuesta inmune severa en pacientes de grupo sanguíneo "A", "B" o "AB" que reciben CPQ tipo "O", circunstancia que se desconoce actualmente.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la presencia y títulos de las hemolisinas tipo A y B en los sueros obtenidos de donantes de sangre de grupo sanguíneo “O”, aceptados para la producción de concentrado de plaquetas en el Banco de Sangre del Hospital Carlos Andrade Marín en el año 2019.

1.3.2 OBJETIVO ESPECÍFICOS

- Detectar la presencia y título de hemolisinas anti-A y anti-B de isotipo IgM en las muestras de suero de donantes de sangre de grupo sanguíneo “O” aceptado para la obtención de CPQ en el Banco de Sangre del Hospital Carlos Andrade Marín, mediante el método de tarjetas de gel y en tubo.
- Determinar la presencia y títulos de hemolisinas anti-A y anti-B de isotipo IgG (inmune) mediante tarjetas de gel y técnica en tubo, en los sueros de donantes aptos para la obtención de concentrados plaquetarios tipo “O” que acuden al Banco de Sangre del Hospital Carlos Andrade Marín.
- Relacionar la presencia de hemolisinas anti-A y anti-B de isotipo IgM o IgG detectadas en las muestras de sueros de los donantes de sangre tipo sanguíneo “O” con las variables de estudio género, edad, embarazos previos, abortos, ingesta de probióticos y número de transfusiones previas.

1.3.3 LIMITACIÓN DEL ESTUDIO

El estudio no está direccionado a determinar la causa-efecto de la producción de hemolisinas en donantes de sangre al no ser un estudio de caso-control, como primer paso únicamente determinará la presencia y título de hemolisinas anti-A y anti-B que permitirá establecer nuevas investigaciones.

CAPÍTULO II

2.1 MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

2.1.1 Antecedentes

En el año 1900, tras el descubrimiento de los grupos sanguíneos por Karl Landsteiner, se creía que todas las personas tenían el mismo tipo de sangre por lo que no se explicaba las consecuencias trágicas posteriores a una transfusión sanguínea (Arbeláez, 2009). Con el tiempo y las investigaciones realizadas en este campo, se determinó que son los antígenos que se encuentran en la superficie de los eritrocitos (A y B) los responsables principales de reacciones transfusionales sanguíneas (Bejerano Pérez, Neyda; García Bejerano, Diego; Pimentel Figueroa, Carlos Alberto, 2016). Un antígeno estimula la producción de anticuerpos en una persona que carece de ese grupo sanguíneo, denominados “aloanticuerpos”. (Berséus, et. al., 2013).

Ottenberg en el año 1911, propuso el término de “donante universal” a las personas de grupo sanguíneo “O”, donde también menciona que existen aglutininas que se originan de forma natural (A y B) que no podrían dañar los glóbulos rojos, ya que estarían demasiado diluidas por su baja concentración. A partir del año 1942 algunos investigadores mencionan reacciones hemolíticas transfusionales intravasculares (IHTR) graves, debido al alto título de hemolisinas anti-A y anti-B presentes en plasmas de tipo “O”. (Berséus, Boman, Nessen, & Westerberg., 2013).

Un estudio que se llevó a cabo en Estados Unidos en el año 2013, comparó la sensibilidad entre dos técnicas de detección de hemolisinas: tarjetas de gel (células A1 y B agrupadas) y en tubo (células A1 y B separadas), teniendo como resultado que en un conjunto de validación inicial de once muestras analizadas, cinco fueron negativas en ambas técnicas, cinco positivas para ambos métodos y una muestra positiva solo por gel para anti – A, sin lograr ser identificada por técnica en tubo, este hallazgo permitió establecer que la tarjeta en gel puede detectar la presencia de anticuerpos en baja concentración por su mayor sensibilidad (Quillen, Sheldon, & Flegel, 2013).

En el estudio realizado en México por Medécigo en el año 2013, de las 313 muestras de suero analizadas, 40 % presentaron títulos de hemolisinas de 1/256, los mismos que eran de grupo “O”, causantes de reacciones hemolíticas por no ser 100 % compatibles (Medécigo Lira, Cázares Tamez, Pérez Chávez, & Díaz Olachea, 2013).

Oyedeki llevó a cabo un estudio en el Hospital Docente de la Universidad de Lagos – Nigeria, donde fueron analizados 350 muestras de sueros de personas grupo “O” (331 varones y 19 mujeres) y determinó que la prevalencia de hemolisinas anti-A y anti-B fue del 30,3 %. Varios estudios en Nigeria sugieren que la frecuencia es alta, con tasas que varían del 23,2 % hasta el 85 % de hemolisinas. Por lo tanto, es necesario revisar los datos sobre el predominio de estas hemolisinas en donantes sanguíneos del grupo “O” debido a la amplia variación en la prevalencia antes mencionada.

La transfusión de sangre en nuestro entorno generalmente sigue la regla de transfundir solo sangre compatible a un receptor, después de una prueba cruzada mayor para transfusión de hemocomponentes, sin tomar en cuenta que el plasma que actúa como diluyente de las plaquetas del grupo sanguíneo “O” contiene anticuerpos IgM anti-A y anti-B de origen natural que son incompatibles con los glóbulos rojos de los receptores A o B (Oyedeki, Adeyemo, Ogbenna, & Akanmu, 2015).

2.1 MARCO TEORICO

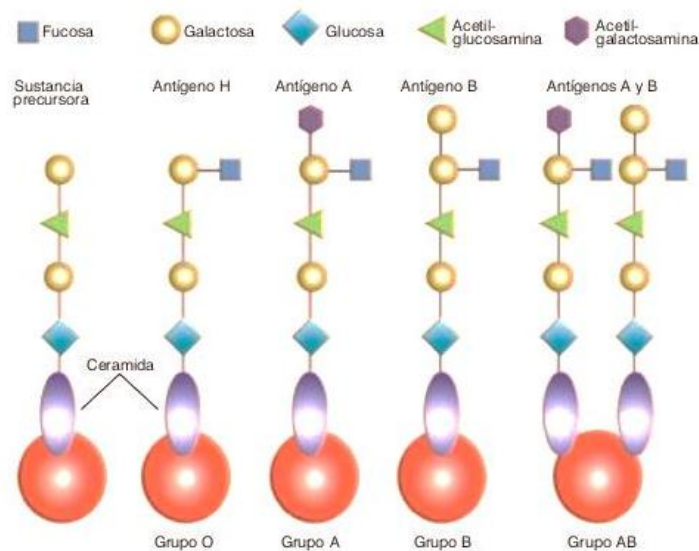
2.1.1. Sistema ABO

Este sistema es considerado uno de los más importantes para medicina transfusional debido a la gravedad de sus reacciones post-transfusionales ya que para una transfusión segura debe haber compatibilidad ABO y Rh. (Bejerano Pérez, Neyda; García Bejerano, Diego; Pimentel Figueroa, Carlos Alberto., 2016). El gen ABO se encuentra ubicado en el cromosoma 9, posee 4 alelos: A₁, A₂, B y O, que son codificados según el antígeno que se encuentre en la membrana del eritrocito, también poseen anticuerpos dirigidos contra esos antígenos. (Parra Arancibia & Toro Opazo, 2017). La expresión de los antígenos ABO sobre la superficie de los glóbulos rojos corresponde a la actividad de una enzima α -1, 2 fucosil transferasa, donde la galactosa terminal se le transfiere un residuo de L-fucosa para dar origen al antígeno H, sobre este sustrato actuará la glicosil transferasa A y glicosil transferasa B, a las que se le adiciona en la galactosa terminal residuos de N-acetilgalactosamina y D-galactosa respectivamente, para expresar el antígeno correspondiente a cada individuo. Para el grupo sanguíneo “O” el antígeno H no se modifica, ya que carece de glicosil transferasas A y B (Ramírez González, Trujillo Castro, Donado Gómez, Barco Atehortúa, & Jaramillo Velásquez, 2014) (Figura 1.) (Figura 2.)

La relevancia de las transfusiones sanguíneas con el grupo sanguíneo ABO, se da por la aparición de anticuerpos dirigidos contra el antígeno que se carece. Las personas de grupo sanguíneo A, tendrán anticuerpos anti-B, las personas de grupo sanguíneo B, desarrollan anticuerpos anti-A, los individuos de tipo sanguíneo AB no expresan anticuerpos A ni B, pero los individuos de tipo "O" producen anti-A y anti-B (Wolfram, Sauerwein, Binder, Eibl-Musil, Wolf, & Fischer, 2016).

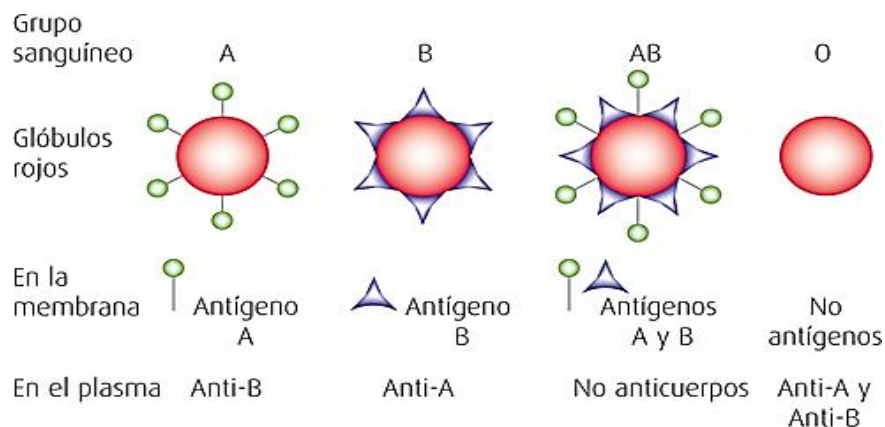
Los anticuerpos naturales son glicoproteínas constituidas por inmunoglobulinas de isotipo IgM, las mismas que se producen en ausencia a una estimulación antigénica externa, no así los anticuerpos de isotipo IgG que se producen ante una estimulación como un embarazo, transfusión de sangre incompatible, etc. Los anticuerpos anti-A y anti-B de individuos de grupo sanguíneo A y B, tiene predominantemente inmunoglobulinas de tipo M, mientras que los individuos de grupo sanguíneo "O" predomina de isotipo IgG e IgM (Wolfram, Sauerwein, Binder, Eibl-Musil, Wolf, & Fischer, 2016).

Figura 1. Antígenos del Sistema ABO



Fuente: Revista Medicina y Laboratorio. Volumen 15. p 333
 Autor: (Arbeláez García Carlos Alberto, 2009)

Figura 2. Grupo Sanguíneo



Fuente: Texto Atlas de Histología. Biología celular y tisular.

Autor: (Sepúlveda Saavedra Julio, 2013)

2.1.2 Anticuerpos del sistema ABO

El sistema inmune del recién nacido es inmaduro, carece de memoria inmunológica, pero aun así responde a estímulos antigénicos, presenta anticuerpos que se encuentran en el cordón umbilical (IgG), los mismos que son transferidos pasivamente por la madre, siendo esta la razón por la cual no se consideran válidos hasta después de los seis meses de vida, tiempo en que el neonato crea sus propios anticuerpos. La inmunoglobulina M es la única que sintetiza el recién nacido, se encuentra en concentraciones bajas < 6 mg/dL, aumentando sus concentraciones ante la exposición a antígenos extraños (Salazar Torres & Ávila Gamboa, 2014).

La inmunoglobulina M es de tipo natural y su presencia se debe a antígenos que han ingresado en los primeros periodos de vida, no provoca enfermedad hemolítica del recién nacido, ya que no atraviesa placenta, aun así activa el complemento en la reacción antígeno – anticuerpo y provoca hemólisis en los eritrocitos. La inmunoglobulina G, por el contrario atraviesa placenta y produce incompatibilidad feto – materna y reacciones transfusionales. Estos anticuerpos no aglutinan de forma directa, pero sensibilizan y recubren a los glóbulos rojos. (Sandoval, 2014)

Los anticuerpos del sistema ABO se generan mediante una exposición previa a antígenos A, B o similares, ya sea *in útero* o postparto, como también debido a la respuesta a una exposición a antígenos similares de bacterias intestinales, vacunas, alimentos y polen. De

esta manera se forman los anticuerpos dirigidos a antígenos ausentes en los glóbulos rojos de cada persona (Berséus, et. al., 2013).

La compatibilidad o incompatibilidad de los grupos sanguíneos está dada por la presencia de estos anticuerpos, es por ello que en una transfusión de sangre de grupos compatibles no causará ninguna reacción en el receptor, caso contrario si se transfunde un componente sanguíneo de grupo diferente, el receptor presentará una respuesta inmune, que actuará contra los eritrocitos portadores del antígeno extraño (Bejerano Pérez, Neyda; García Bejerano, Diego; Pimentel Figueroa, Carlos Alberto, 2016).

2.1.3 Producción de hemolisinas anti-A y anti-B

Son anticuerpos (anti-A, anti-B) que van a causar hemólisis en los eritrocitos de los receptores de plaquetas de grupo sanguíneo A, B ó AB, siempre y cuando el donante de sangre presente títulos significativamente elevados ($> 1/64$ o $> 1/256$) en su plasma (Oyedeggi, et. al., 2015). El estudio de Sprogøe, sugiere que los títulos de anticuerpos de isoisotipo IgG anti-A y anti-B están presentes cuando el donante ha sido expuesto a eventos que producen inmunización como transfusiones o embarazos (Sprogøe, Yazer, Rasmussen, Antonsen, Bistrup, & Assing, 2017).

La presencia de estas hemolisinas está relacionada con la producción de una reacción hemolítica especialmente en el uso de concentrados plaquetarios de donantes grupo "O" con presencia inusual de altos títulos de anti-A y anti-B y transfundidas a donantes grupo A y B. Los métodos sugeridos para mejorar la seguridad de trasfusiones a personas de otros grupos sanguíneos se han centrado en la definición de un nivel de anticuerpos para evitar el riesgo de hemólisis. Sin embargo, para determinar este título o nivel crítico es un desafío en el sistema de bancos de sangre (Josephson, Castillejo, Grima, & Hillyer, 2010).

2.1.4 Plaquetas, transfusión y grupo ABO

Las plaquetas expresan en la superficie carbohidratos de grupo ABO, este hemocomponente es producido a partir de sangre total y son resuspendidas en plasma del donante el mismo que contiene de forma natural anticuerpos anti-A y anti-B que se producen en ausencia del antígeno correspondiente (Josephson, Castillejo, Grima, & Hillyer, 2010).

Durante la transfusión de CPQ pueden ocurrir dos tipos de incompatibilidad denominadas mayor y menor. La incompatibilidad mayor ocurre cuando el donante de plaquetas posee antígenos incompatibles con las isoaglutininas del receptor, por ejemplo: donante grupo A y receptor "O". En contraste, una incompatibilidad menor ocurre cuando el plasma del donante contiene isoaglutininas incompatibles con los antígenos del receptor, por ejemplo, CPQ de grupo "O" y receptor AB. Se sugiere que existe una adquisición pasiva de anticuerpos en pacientes que requieren de transfusiones constantes de concentrado de plaquetas que pueden desencadenar en una reacción hemolítica tardía por la reacción antígeno-isoaglutininas o hemolisinas (Josephson, Castillejo, Grima, & Hillyer, 2010).

También se ha descrito una acelerada destrucción de plaquetas en pacientes que han recibido concentrados plaquetarios de incompatibilidad ABO por el incremento de títulos de isoaglutininas anti-A y anti-B, debido al uso de varias unidades de concentrado de plaquetas por el corto tiempo de supervivencia en el receptor (Josephson, Castillejo, Grima, & Hillyer, 2010).

2.1.5 Concentrados Plaquetarios

2.1.5.1 Requisitos de aceptación en donantes de plaquetas

Para la donación de plaquetas se requiere los siguientes requisitos:

- ✓ Edad mayor de 18 años y menor de 65 años.
- ✓ Accesos venosos en región cubital visible o palpable en ambos brazos.
- ✓ Peso mayor de 50 kg.
- ✓ Ser donador apto de acuerdo a su historia clínica.
- ✓ Sin prácticas sexuales de riesgo.
- ✓ No haber ingerido medicamentos en los últimos 7 días (ácido acetil salicílico, esteroides, antibióticos).
- ✓ No haber ingerido medicamentos en las últimas 48 horas como: AINES y antiinflamatorios no esteroideos.
- ✓ Disminuir el consumo de grasas y lácteos 48 horas antes.
- ✓ Medicamentos prohibidos para la donación de plaquetas: Los donantes diferidos por este criterio, se debe al efecto del medicamento ingerido que pueda causar un riesgo potencial al receptor o al feto en desarrollo. La FDA recomienda diferir a donantes de plaquetas por aféresis que consuman estos medicamentos: (American Association of Blood Banks & Asociación Argentina de Hemoterapia e Inmunohematología., 2012).

- Piroxicam (Feldene): se difiere 2 días para donantes de plaquetas.
- Clopidogrel (Plavix) y Ticlopidina (Ticlid): se difiere 14 días para donantes de plaquetas.
- Warfarina y Heparina: diferimiento permanente.

Los donantes de plaquetas por aféresis pueden donar con más regularidad que los donadores de sangre entera, considerando que deben cumplir los requisitos de todos los donadores de sangre. Estos donantes no deben exponerse a plaquetaféresis más de 24 veces al año o 2 veces por semana, si su frecuencia de donación es menor a 4 semanas, se debe realizar recuento de plaquetas ($> 150.000/\mu\text{L}$) previamente a someterse a plaquetaféresis. La AABB considera que es necesario realizar un recuento plaquetario antes del procedimiento o en tal caso en una muestra recolectada antes y después del procedimiento anterior (American Association of Blood Banks & Asociación Argentina de Hemoterapia e Inmunohematología., 2012).

2.1.5.2 Métodos de obtención de plaquetas

La separación de la sangre en sus componentes celulares y plasmáticos permite administrar al paciente sólo aquel componente que necesita. El incremento de la transfusión de plaquetas, ha favorecido que los métodos para su obtención hayan mejorado progresivamente, dentro de los cuales podemos encontrar varias técnicas como las que se mencionan a continuación:

- **Fraccionamiento primario de sangre por centrifugación:** Procedimiento en el cual se va a obtener la mayor parte del contenido plaquetario original (PRP), derivado de la sangre total fresca que se transfiere a una bolsa satélite. Se obtiene a partir de una centrifugación suave a 3800 rpm ($\text{RCF} = 4197.42$) por siete minutos. Las variables más importantes que inciden sobre la recuperación a partir de la sangre entera son: velocidad de centrifugación, tamaño del rotor y duración de centrifugación. (American Association of Blood Banks & Asociación Argentina de Hemoterapia e Inmunohematología., 2012)
- **Fraccionamiento secundario de sangre por centrifugación:** se realiza una segunda centrifugación (intensa) a la bolsa satélite de PRP posterior a la centrifugación primaria, para que las plaquetas por gravedad se ubiquen al fondo de la bolsa consecuencia de la fuerza centrífuga. Se obtiene centrifugando a 800

rpm (RCF= 186.04) a siete minutos. (American Association of Blood Banks & Asociación Argentina de Hemoterapia e Inmunohematología., 2012)

- **Obtención de concentrado plaquetarios a partir del buffy coat:** se va a obtener plasma rico en plaquetas al dejar suspendidas en la bolsa satélite durante dos horas, posterior a un filtrado a través de filtro de leucocitos (leucodeplecionados). Las condiciones son una temperatura entre 20-24°C y centrifugar a 1000 rpm (RCF= 2.91), para evitar agregación plaquetaria. (American Association of Blood Banks & Asociación Argentina de Hemoterapia e Inmunohematología., 2012)
- **Aféresis plaquetaria:** Consiste en la extracción de la sangre mediante una máquina (separador celular) que separa el 30 % de las plaquetas presentes en el cuerpo mediante centrifugación de los distintos componentes según su densidad, almacenándolas en una bolsa y restituyendo los demás componentes de la sangre extraída al donante (Aliano Palomino , 2018).

2.1.5.3 Control de calidad de los concentrados plaquetarios

Los concentrados plaquetarios al igual que todos los hemocomponentes deben cumplir con requisitos establecidos por la FDA y otros requerimientos regulatorios, por ello deben evaluarse mediante un control de calidad, donde los bancos de sangre pueden establecer requisitos más estrictos a los estandarizados. (American Association of Blood Banks & Asociación Argentina de Hemoterapia e Inmunohematología., 2012)

Tabla 1.

Comparación de los requisitos para el control de calidad de los hemocomponentes por la AABB, la FDA y el Consejo de Europa

Componente	AABB	FDA	Consejo de Europa
Plaquetas	El 90% de las unidades de muestra deben contener $\geq 5.5 \times 10^{10}$ plaquetas y un pH ≥ 6.2 al ser almacenadas.	El 75% de las unidades deben tener un recuento de plaquetas de $\geq 5.5 \times 10^{10}$ /unidad. Se debe evaluar 4 unidades mensualmente al final del intervalo de almacenamiento para pH ≥ 6.2 .	Se evalúa el volumen de todas las unidades (>40mL por 60×10^9 plaquetas). El 1% de las unidades se evalúa para recuento de plaquetas (> 60×10^9 /unidad simple, lo que representa el 75% de las unidades evaluadas). Se evalúa un mínimo de 4 unidades/ mes o el 1% para pH (6.4-7.4).
Plaquetas obtenidas por aféresis	El 90% de las unidades deben contener $\geq 3.0 \times 10^{11}$ plaquetas, así como el 90% de las unidades al final del almacenamiento permitido posean un pH ≥ 6.2 .	La cantidad de unidades evaluadas deben ser suficiente para dar el 95% de seguridad que el 75% de componentes plaquetarios tienen un rendimiento de $\geq 3.0 \times 10^{11}$ /unidad. Se debe evaluar de la misma manera un número similar suficiente para pH ≥ 6.2 .	Se evalúan las unidades para volumen (>40mL por 60×10^9 plaquetas). Al mes se evalúa 10 unidades o el 1% de todas las unidades para recuento de plaquetas (> 200×10^9 /unidad en el 90% de unidades evaluadas).

Fuente: AABB Manual Técnico. Edición 17a

Autores: American Association of Blood Banks & Asociación Argentina de Hemoterapia e Inmunohematología (2012).

2.1.6 Criterios de transfusión de concentrados plaquetarios

Se pueden utilizar varios criterios a fin de evitar hemólisis aguda cuando se debe realizar una transfusión de plasma incompatible como parte de una transfusión de plaquetas. Uno de estos criterios es limitar la cantidad de plasma mediante la centrifugación de la unidad y la eliminación de la mayoría del plasma inmediatamente antes de la transfusión. Esto mejora la severidad de una potencial hemólisis pero puede no evitarla y, en cualquier caso, tiene como resultado la pérdida de algún porcentaje en el contenido de plaquetas de la unidad. Otro de los criterios es evitar la transfusión de unidades de grupo diferente teniendo un título de isoaglutininas “altamente peligroso”. Usualmente este criterio implica identificar unidades con un determinado umbral de anti-A, por lo general con una titulación de 200 (American Association of Blood Banks & Asociación Argentina de Hemoterapia e Inmunohematología, 2012).

Existe también alguna sugerencia de que las transfusiones con plaquetas ABO-incompatibles pueden acelerar el desarrollo de aloinmunización y refractariedad y puede reducir la supervivencia luego de un trasplante de médula ósea. Cualquier impacto inmunológico tardío luego de la transfusión de plaquetas con plasma incompatible debe ser completamente elucidado, aunque evitar una transfusión de grupo diferente cuando sea posible podría obviar cualquier tipo de preocupación (American Association of Blood Banks & Asociación Argentina de Hemoterapia e Inmunohematología, 2012).

El promedio de vida de las plaquetas transfundidas aparenta ser normalmente corto en aquellos pacientes trombocitopénicos. Aunque las plaquetas almacenadas durante cinco o siete días y luego reinfundidas en forma autóloga en sujetos normales habitualmente tienen una supervivencia de más de cinco días, el promedio de vida en pacientes trombocitopénicos puede ser de sólo dos días. Este acortamiento puede atribuirse a la pérdida fija de plaquetas en circulación de aproximadamente 7.100 plaquetas/uL al día para el mantenimiento de la hemostasia normal. (American Association of Blood Banks & Asociación Argentina de Hemoterapia e Inmunohematología, 2012).

Aún sigue sin decidirse cuál es la cantidad de plaquetas que pueden ser consideradas como una “dosis terapéutica”. Actualmente, en los bancos de sangre utilizan unidades de plaquetas con recuentos plaquetarios significativamente menores al de las unidades que al momento se producen.

La elección sobre qué tipo de unidad de plaquetas utilizar en las transfusiones de rutina varía según la institución. Según la AABB 2012, en la actualidad, aproximadamente el 85 % de las transfusiones de plaquetas en Estados Unidos son obtenidas por aféresis, y el índice de utilización de dichas plaquetas ha aumentado paulatina y linealmente durante dos décadas. Las políticas de fijación de precios locales y la preferencia de los servicios de transfusión para evitar los pasos de procesamiento extras asociados con las unidades obtenidas de sangre entera son probablemente factores significativos en la elección. Las plaquetas obtenidas de buffy coat pueden presentar algunas ventajas, como menor activación durante los pasos de centrifugación, (probablemente sean los componentes más ampliamente utilizados en el mundo) proveyendo buenos resultados clínicos.

La importancia de proporcionar transfusiones de plaquetas utilizando unidades con mismo grupo ABO del receptor es también un tema sin resolver, por lo que según la AABB 2012, se deben tomar varios puntos a considerar:

- a) La presencia de antígenos ABH en plaquetas que puede ser objeto de las aglutininas del receptor.
- b) La presencia de plasma en la unidad, lo que podría llevar a hemólisis de los glóbulos rojos del receptor.
- c) El potencial efecto inmunológico de la incompatibilidad que puede afectar el resultado en el paciente.

Las plaquetas poseen antígeno ABO tanto como estructuras intrínsecas y extrínsecas, absorbidas desde el plasma. Están, consecuentemente, sujetas al ataque de las aglutininas del receptor. Si se realiza una transfusión de unidades de plaquetas ABO – idénticas, se evita este problema potencial. Aunque realizar una transfusión de una unidad de plasma de grupo “O” a un receptor de grupo “A” no se considera una práctica estándar, esta práctica sí es comúnmente llevada a cabo bajo el apartado de transfusión de plaquetas. Muchos pacientes no presentan signos o síntomas de incompatibilidad, aunque la mayoría pueden tener una prueba de antiglobulina directa positiva (PAD) que al menos cause alguna confusión inmunohematológica. No obstante, un donante con un alto título de isoglutininas puede causar hemólisis de los glóbulos rojos del receptor que pueden ser clínicamente significativos e incluso fatales. (American Association of Blood Banks & Asociación Argentina de Hemoterapia e Inmunohematología., 2012)

2.1.7 Reacciones post–transfusionales por incompatibilidad plaquetaria

Las reacciones post-transfusionales por incompatibilidad de plaquetas se debe a las reacciones adversas que pueda presentar el receptor durante o posterior a la administración de las mismas. Las reacciones por incompatibilidad de plaquetas se mencionan en la Tabla 2.

Tabla 2.

Reacciones plaquetarias por incompatibilidad ABO

<p>Por incompatibilidad ABO mayor</p>	<p>Existe en el receptor destrucción acelerada de plaquetas (4-24 horas). Hay una variación en la función plaquetaria posteriormente a la exposición in vitro a anti-A y anti-B. Plaquetas menos funcionales, ya que existe generación y agregación de trombina. Se produce anticuerpos contra HLA y antígeno plaquetario (HPA). Aumentan los títulos anti-A y anti-B.</p>
<p>Por incompatibilidad ABO menor</p>	<p>Produce en el receptor reacción transfusional hemolítica (IHTR), lo que se relaciona principalmente con donantes "O" y receptores no "O". Se clasifican como "títulos altos" y "títulos no altos". Plaquetas de "título alto" se transfunden solo a receptores O, plaquetas de "títulos no altos" se transfunden a receptores no "O". Existe formación de inmunocomplejos ABH, en el receptor los complejos glicosilados ABH y las partes circulantes de los antígenos ABH, inactivan y reconocen anticuerpos anti-A y anti-B transfundidos.</p>

Fuente: Asian Journal of Transfusion Science. Vol. 9

Autores: Valsami Serena, Dimitroulis Dimitrios, Gialeraki Argyri. (2015)

2.2 MARCO CONCEPTUAL

Hemolisinas.- Son anticuerpos (anti-A, anti-B) que van a causar hemólisis en los eritrocitos de los receptores de plaquetas, siempre y cuando el donante de sangre presente títulos significativamente elevados (>1:128) en su plasma. (Oyedeki, et. al., 2015).

Titulación de anticuerpos. - Es un examen semi-cuantitativo de laboratorio para determinar la concentración de anticuerpos en muestras de suero para comparar la intensidad de la expresión antigénica en distintas muestras de glóbulos rojos. (Dugdale, 2012)

Isoaglutininas.- anticuerpos que se producen al contacto con antígenos alogénicos (Sprogøe, Yazer, Rasmussen, Antonsen, Bistrup, & Assing, 2017).

Alogénico.- Término utilizado para fenotipos en individuos genéticamente diferentes pero de la misma especie, este término es aplicado comúnmente a los antígenos de los grupos sanguíneos. (Berséus, Boman, Nessen, & Westerberg., 2013).

Anticuerpos.- Es una proteína que reacciona contra un antígeno desconocido o no compatible en la sangre u otros fluidos, los cuales se adquieren al tener una exposición frente a una sustancia extraña (hemolisinas), donde el sistema inmunitario va a brindar una respuesta, identificándolas y neutralizándolas. (Khampanon, Chanprakop, & Sriwanitchrak, 2014)

Anticuerpo IgG.- Proteína inmune de bajo peso molecular, constituyen el 73% de las inmunoglobulinas totales, la sobrevivencia es de 60-70 días. Atraviesa placenta y se adquiere posterior a un embarazo, aborto y transfusión sanguínea. (Sandoval, 2014)

Anticuerpo IgM.- Proteína de alto peso molecular, tiene una sobrevivencia de 10 días. Constituye el 8% de las inmunoglobulinas totales. Se presenta de forma natural y activa el complemento causando hemólisis de los glóbulos rojos. (Sandoval, 2014)

Aloanticuerpo.- Anticuerpo (inmunoglobulina) natural o inmune, fabricado por el organismo ante la exposición de una sustancia (antígeno) extraña estimulada por una transfusión sanguínea o embarazos. (Sandoval Pinzón & Herrera Jiménez, 2009)

Reacción Hemolítica Post-Transfusional.- Hemólisis que aparece tras una transfusión por una incompatibilidad del grupo sanguíneo. La causa es la combinación *in vivo* de un anticuerpo con hematíes que poseen el antígeno correspondiente, después de la administración de sangre incompatible (Arbeláez, 2009)

Concentrados Plaquetarios (CPQ).- Contiene plaquetas obtenidas de una unidad de sangre total en 50 cc de volumen, por medio de procesos de aféresis (plaquetoféresis) consiguiendo de 6 a 8 unidades de CPQ a partir de una solo donador. (Carrillo & Garnica, 2011)

Incompatibilidad. – termino que relaciona a dos individuos de grupos sanguíneos diferentes y que no pueden recibir transfusiones de hemocomponentes entre ellos (Asociación Americana de Bancos de Sangre, 2012).

Buffy Coat: Capa leucoplaquetar procedente de sangre total, obtenida posterior a la centrifugación. (Lozano, Rivera, & Vicente, 2012)

CAPÍTULO III

3.1 MARCO METODOLÓGICO

3.1.1 MATERIALES Y MÉTODOS

Considerando una población finita de 900 CPQ producidos mensualmente en el Banco de Sangre del HCAM de acuerdo a los registros que mantiene actualmente el laboratorio, un intervalo de confianza del 95 % (z de 1,96), un margen de error del 5 %, y una probabilidad de que suceda el evento (prevalencia) del 40 % (de acuerdo con el estudio de Medécigo, 2013 en Monterrey, Nuevo León, México), el tamaño muestral es de 308 CPQ tipo "O".

La presencia y titulación de hemolisinas anti-A y anti-B se realizó mediante la técnica de tubo, para lo cual se prepararon diluciones seriadas dobladas hasta 1/256 de suero y se enfrentó con células comerciales BIORAD A1B, mediante la técnica de aglutinación en tarjetas de gel Coombs y salina se determinó el título.

Para la detección de la aglutinación se utilizó la metodología en gel BIORAD:

- ✓ Con antiglobulina humana anti-IgG/C3 para detección de anticuerpos isotipo IgG
- ✓ Con composición salina para la identificación de anticuerpos IgM (Anexo 1)
- ✓ Control de calidad se utilizó sueros con títulos altos de IgG e IgM

3.1.1.1 Tipo de Estudio

Este estudio fue de tipo observacional, descriptivo de corte transversal, ya que no se manipuló las variables sino únicamente se detalló las características o cualidades de los donantes a través de un cuestionario y se determinó la presencia o ausencia y título de hemolisinas anti-A y anti-B en sueros de concentrados de plaquetas de donantes de sangre de grupo "O" y fue de corte transversal porque el análisis y la toma de información se realizó en un solo momento del estudio.

3.1.1.2 Tipo de Muestreo

La selección de los sueros obtenidos de donantes de sangre de grupo sanguíneo "O" que cumplieron con los criterios de aceptación para la obtención de concentrados plaquetarios que formaron parte del estudio se realizó por muestreo aleatorio simple y al azar, para lo cual se seleccionaron los días de acuerdo a la planificación que mantenía el Banco de Sangre del HCAM en horario y calendario establecidos.

3.1.1.3 Tamaño de Muestra

Para el cálculo del tamaño de muestra se utilizó la siguiente fórmula para población finita y una proporción, considerando una población finita de 900 CPQ producidos mensualmente en el Banco de Sangre del HCAM de acuerdo a los registros que mantiene el laboratorio:

$$n = \frac{N * Z_{\alpha}^2 * p * q}{d^2 * (N - 1) + Z_{\alpha}^2 * p * q}$$
$$n = \frac{900 * 1.96^2 * 0.4 * 0.6}{0.05^2 * (900 - 1) + 1.96^2 * 0.4 * 0.6}$$
$$n = 262$$

Donde:

N: tamaño de la población total

n: tamaño de la muestra

Z: nivel de confianza

p: Probabilidad de que suceda el evento

q: Probabilidad de que no suceda el evento

d: Margen de error de muestreo

Considerando una población finita de 900 CPQ producidos mensualmente en el Banco de Sangre del HCAM de acuerdo a los registros que mantiene actualmente el laboratorio, un intervalo de confianza del 95 % (z de 1,96), un margen de error del 5 %, y una probabilidad de que suceda el evento (prevalencia) del 40% (de acuerdo con el estudio de Medécigo, 2013 en Monterrey, Nuevo León, México), el tamaño muestral es de 262 CPQ tipo "O".

Tomando en cuenta las posibles pérdidas para un R del 15 %:

N= 262

R= 15 %

$$\text{Muestra ajustada a las pérdidas} = 262 * \left(\frac{1}{1-0.15} \right)$$

$$\text{Muestra ajustada a las pérdidas} = 308$$

Decisión: con un nivel de confianza de 95%, un margen de error del 5% y una probabilidad de que suceda el evento del 40% y considerando una posibilidad de pérdida del 15%, se requirió para el presente estudio **308** donantes de grupo sanguíneo "O" de los que se obtuvo el suero.

3.1.1.4 Criterios de Inclusión

Criterios de inclusión de los donantes de sangre grupo O

- Los donantes grupo "O" de 18 a 60 años aceptados para la obtención de concentrados plaquetarios que firmen libre y voluntariamente el consentimiento informado. (Anexo 2)
- Los donantes grupo "O" aceptados para la obtención de concentrados plaquetarios de los cuales se tenga la información completa en la encuesta realizada. (Anexo 3)

Criterios de inclusión de las muestras de suero de donantes de sangre grupo "O"

- Aspecto traslúcido y amarillo.
- Volumen $\geq 200\text{ul}$.

3.1.1.5 Criterios de Exclusión

Criterios de exclusión de los donantes de sangre grupo "O"

- Todos los donantes de sangre grupo "O" que fueron rechazados o diferidos para la obtención de concentrados plaquetarios.

Criterios de exclusión de las muestras de suero de donantes de sangre grupo "O"

- Todas las muestras de suero de los donantes de sangre grupo "O" aceptados para la obtención de concentrados plaquetarios que no se encuentren rotuladas adecuadamente.
- Todas las muestras de suero que no se conserven a una temperatura adecuada (4°C).
- Todas las muestras de suero que no se encuentren en condiciones adecuadas para su análisis (hemólisis, contaminados, ictericos).
- Todas las muestras de suero que por diversos motivos (error de fraccionamiento, volumen insuficiente, etc.) sean rechazadas por el personal del Banco de Sangre del HCAM.

3.1.1.6 Análisis Estadístico

El tipo de variable a manejar en el estudio es cuantitativa discreta y cualitativa nominal, por lo tanto, se realizó el análisis en el programa SPSS v23.0 las frecuencias absolutas y

relativas de cada variable y categoría, las mismas que se representaron en gráficas o tablas. La relación de variables (títulos de hemolisinas obtenidas en los sueros de CPQ de donantes grupo sanguíneo tipo "O" con las otras variables en estudio) se utilizó la prueba de razón de verosimilitud, variante de χ^2 con un α del 0.05.

3.2 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Objetivo	Variable	Dimensión	Categoría	Definición Conceptual	Indicadores	Tipo de Variable	Instrumento de Medida	Técnica
Determinar la presencia y títulos de las hemolisinas tipo A y B en los sueros obtenidos de donantes de sangre de grupo sanguíneo O, aceptados para la producción de concentrado de plaquetas en el Banco de Sangre del Hospital Carlos Andrade Marín en el año 2019	Título de Hemolisinas	Presencia de: Anti- A/ Anti-B	> 1/128 peligroso <1/128 no peligroso	Nivel de anticuerpos en la sangre que indican si usted ha estado expuesto o no a un antígeno de grupo sanguíneo A o B.	Porcentaje de CPQ con títulos >128 Porcentaje de CPQ con títulos <128	Cuantitativa discreta.	Observación macroscópica	Prueba directa en tubo
Detectar la presencia y título de hemolisinas anti-A y anti-B de isotipo IgM (natural) en concentrados de plaquetas, de donantes de sangre de grupo sanguíneo O, producidos en el Banco de Sangre del Hospital Carlos Andrade Marín, mediante el método de tarjetas de gel y en tubo	Títulos de anticuerpos isotipo IgM	Presencia de anti-A/ anti-B	Presencia Ausencia	<i>In vivo</i> estos anticuerpos producen hemólisis intravascular.	Porcentaje de CPQ con anti-A, Anti-B isotipo IgM	Cualitativa dicotómica	Observación macroscópica mediante patrones de reacción (tarjeta Kit)	Técnica de tarjeta en gel con antiglobulina humana IgM
Determinar la presencia y títulos de hemolisinas anti-A y anti-B de isoisotipo IgG (inmune) mediante tarjetas de gel y técnica en tubo, en los sueros de donantes aceptados para la obtención de concentrados plaquetarios tipo O que acuden al Banco de Sangre del Hospital Carlos Andrade Marín.	Títulos de anticuerpos isotipo IgG	anti-A anti-B	Presencia Ausencia	Estos anticuerpos producen hemólisis extravascular o esplénica.	Porcentaje de CPQ con anti-A, Anti-B isotipo IgG	Cualitativa dicotómica	Observación macroscópica mediante patrones de reacción (tarjeta Kit)	Técnica de tarjeta en gel con antiglobulina humana IgG

Objetivo	Variable	Dimensión	Categoría	Definición Conceptual	Indicadores	Tipo de Variable	Instrumento de Medida	Técnica
Relacionar la presencia de hemolisinas anti-A y anti-B de isotipo IgM o IgG detectadas en los sueros de los donantes de sangre tipo sanguíneo O con el género, edad, embarazos previos, abortos, ingesta de probióticos y número de transfusiones previas en los donantes de sangre que intervengan en el estudio.	Género		Varón Mujer	Se refiere a la distinción entre femenino y masculino, es decir la identidad sexual, comportamientos, actividades y atributos que cada sociedad considera apropiados para cada uno. (OMS, 2019)	Porcentaje de varones Porcentaje de mujeres	Cualitativa dicotómica	Formulario de donación	Entrevista
	Edad		18-25 años 26-35 años 36-43 años 44-51 años 52-60 años	Tiempo transcurrido desde el nacimiento de un ser vivo.	Frecuencia relativa (%)	Cuantitativa discreta	Formulario de donación	Entrevista
	Embarazos previos		0, 1, 2, 3, ...	Se considera cuando una mujer ha tenido uno o más hijos.	Frecuencia relativa (%)	Cuantitativa discreta	Formulario de donación y encuesta	Entrevista
	Abortos		0, 1, 2, 3, ...	Interrupción o malogramiento del embarazo por causas naturales o provocadas.	Frecuencia relativa (%)	Cuantitativa discreta	Formulario de donación y encuesta	Entrevista
	Ingesta de probióticos		Si No	Microorganismos vivos (bacterias o levaduras) que están presentes en alimentos, medicamentos o suplementos dietéticos, aportan beneficios para la salud de quien los consume.	Porcentaje de donantes que consumen probióticos	Cualitativa dicotómica	Encuesta	Entrevista
	Transfusiones previas		0, 1, 2, 3, ...	Evento por el cual el paciente ha recibido previamente sangre de un donador.	Frecuencia relativa (%)	Cuantitativa discreta	Formulario de donación y encuesta	Entrevista

3.2 MATERIALES Y PROCESO

3.2.1 Materiales

- Tubos de vidrio, capacidad 5 mL
- Puntas amarillas
- Gradillas
- Tarjetas de gel con antiglobulina humana IgG e IgM, marca Bio-Rad, código M201901XXX / V201901XXX
- Pipetas automáticas calibradas de 10 a 100 µL
- Centrifuga Grifols Symed (tarjetas) (Anexo 4)
- Incubadora Grifols, Symed, T 37°C (Anexo 5)

3.2.2 Reactivos

- Células A1B, Bio-Rad
- Internal Quality Control – Bio-Rad

3.2.3 Control de Calidad

- Validación de las tarjetas de gel de acuerdo a la casa comercial, se creó una lista de cotejo para cumplimiento de las características físicas: integridad del gel, aspecto, presencia de burbujas, coloración.
- Calibración de pipetas: se verificó los registros de calibración y verificación de las pipetas utilizadas en el proyecto, provistas por el Centro de Investigación para la salud en América Latina (CISeAL) (Anexo 6)
- Tubos de vidrio nuevos, no se utilizaron tubos lavados y esterilizados para control de las variables en el estudio.
- Centrifuga: se verificó los registros de calibración y verificación otorgados por ELICROM. (Anexo 4)
- Patrones de lectura: cartilla de lectura de reacción entregada por la casa comercial, se realizó una lectura comparativa y una validación interoperador y el cálculo del índice kappa de concordancia. (Anexo 1)
- Células comerciales anti-A1 y anti-B: se validó las características físicas como la presencia de hemólisis y el aspecto de coloración y reactividad. (Anexo 7)
- Estudiantes aprobaron la asignatura de inmunohematología 160 horas teórico-prácticas y 100 horas de praxis preprofesional en Banco de Sangre del Hospital Docente de Calderón y Hospital Carlos Andrade Marín.

3.3 PROCEDIMIENTO

Ese estudio se realizó en seis fases:

3.3.1 Fase Uno: Solicitudes, permisos, aprobaciones y autorizaciones.

- El Banco de Sangre del HCAM emitió un oficio de respuesta de interés para la realización del estudio: “Presencia de hemolisinas anti-A y anti-B en concentrados de plaquetas obtenidos de donantes de sangre de grupo sanguíneo “O” en el Banco de Sangre del Hospital Carlos Andrade Marín en el año 2019”, su importancia, los beneficios para el Servicio y la atención a los pacientes, se solicitó la autorización respectiva para trabajar con los donantes que allí concurrieron, así como el acceso a una alícuota de la muestra de plasma necesaria para el estudio y de la misma forma el uso de las instalaciones del laboratorio del Banco de Sangre, con el compromiso de que las investigadoras (estudiantes) llevaron todo el material y reactivos necesarios para realizar las pruebas correspondientes. (Anexo 8).
- El Comité de Ética de la Investigación en Seres Humanos - PUCE emitió su aprobación el 14 de febrero de 2019 (Anexo 9).
- La Dirección Nacional de Inteligencia de la Salud – DNIS del Ministerio de Salud Pública (MSP), emitió su aprobación el 8 de abril de 2019 (Anexo 10)

3.3.2 Fase Dos: Recolección de información y consentimiento informado

Una vez obtenidas las autorizaciones, permisos y aprobaciones respectivas, se concurrió al laboratorio de Banco de Sangre del HCAM durante dos meses, todos los días, variando el horario, en la mañana y tarde, para la recolección al azar de una alícuota de las muestras biológicas (suero) y de la información de los donantes, para lo cual se procedió de la siguiente manera:

- Una vez que el personal de laboratorio realizó el procedimiento establecido para la recepción del donante y verificando que es apto para la obtención de CPQ, además de corresponder al grupo sanguíneo “O”, las investigadoras se acercaron al donante cuidando el bienestar del mismo, y con el debido respeto para solicitarle la participación en el estudio. Explicaron con detalle el objetivo, importancia y beneficios del proyecto, así como la muestra biológica (suero) necesaria para el estudio, haciendo hincapié en que no se requerirá de una nueva punción, pues se tomará una

alícuota de las muestras obtenidas durante el proceso de donación (del tubo piloto que fue extraído por el personal del Banco de Sangre como proceso de rutina) y además se le solicitó información a través de un cuestionario, asegurando en todo momento la confidencialidad de la información.

- El donante leyó el consentimiento informado o en su defecto las investigadoras leyeron dicho documento y respondieron a todas las inquietudes e interrogantes del donante. (Anexo 2)
- Si el donante decidió participar en el estudio de forma libre y voluntaria, se le solicitó firme el consentimiento informado.
- Las investigadoras entregaron el cuestionario al donante para que consigne sus respuestas, en casos necesarios leyeron el cuestionario y fueron llenando el mismo con las respuestas que indicó el donante.
- Se procedió a asignar al cuestionario un código exclusivo alfanumérico asignado por las investigadoras (estudiantes), al que se añadió una letra para identificar el sexo del donante, V para varón y M para mujer, por lo tanto en ningún momento se registró el nombre completo. (Anexo 3).

3.3.3 Fase Tres: Recolección de alícuota de muestra biológica y preparación previa al análisis

- De los donantes de sangre que cumplieron con los criterios de aceptación para la producción de concentrados plaquetarios y firmaron el consentimiento, se procedió a solicitar al analista del Banco de Sangre del área de serología una alícuota de 500 μ L de suero del tubo piloto, muestra que fue obtenida como proceso de rutina por el personal capacitado del Banco de Sangre del HCAM y luego sometida a centrifugado a 5000 rpm por 10 minutos, es decir que las investigadoras en ningún momento realizarán procesos de punción venosa al paciente.
- La alícuota de suero se dispensó en un criovial con capacidad de 1 mL, para su conservación, el mismo que fue identificado con el código único correspondiente al del cuestionario asignado por las investigadoras (estudiantes), con la finalidad de garantizar la confidencialidad de los datos.
- Las muestras séricas fueron analizadas diariamente y conservadas a temperatura de 4°C hasta el momento del procesamiento. Una vez terminado su análisis se procedió a descartar en recipientes de plástico con tapa hermética para su posterior tratamiento, considerando la norma de tratamiento y disposición final mencionada en el art. 54 de

desechos infecciosos del acuerdo ministerial 5186 del Ministerio de Salud Pública.
(Anexo 11)

3.3.4 Fase Cuatro: Análisis por el laboratorio

De acuerdo con los objetivos planteados, se trabajaron dos pruebas, técnica en gel (IgG e IgM) y diluciones en tubo (título de hemolisinas anti-A y anti-B).

Titulación de hemolisinas anti-A y anti-B

La titulación de hemolisinas anti-A y anti-B se realizó mediante la técnica de tubo, para lo cual se preparó diluciones seriadas dobladas hasta 1/256, con 100 µL de suero del donante y 100 µL de solución salina. Para ello se utilizaron pipetas calibradas y caracterizadas por ELICROM (acreditadas por SAE) (Anexo 6).

Detección de IgG e IgM por técnica en gel

En las tarjetas de gel, previamente rotuladas con el código de identificación proporcionado por las investigadoras (estudiantes), se colocó 50 µL de las diluciones (titulación de hemolisinas) de los tubos respectivos en las tarjetas de Coombs IgG y de gel salino, posteriormente se adicionó 40 µL de células comerciales A1B (Bio-Rad) en todos los pocillos. Para IgG la tarjeta de Coombs se llevó a incubación a 37°C por quince minutos, se centrifugó a 3000 rpm (RCF= 1609.92) por diez minutos. Para IgM las tarjetas de gel salino se incubaron a temperatura ambiente por 15 minutos, se centrifugó a 3000 rpm (RCF= 1609.92) por diez minutos. En ambos casos se determinó hasta qué dilución presentaba positividad en la parte superior del gel, es decir la formación del aglutinado. La lectura del resultado se realizó de acuerdo al patrón que proporciona la casa comercial Bio-Rad para estas tarjetas y técnica. (Anexo 1).

3.3.5 Base de datos: Registro de la información y análisis de resultados

Con los resultados obtenidos de las pruebas de laboratorio y las respuestas del cuestionario se elaboró una hoja electrónica (Excel v 23.0), ingresando la información de las variables en estudio codificadas de acuerdo con lo establecido para cada uno y que se detalla en el anexo 3, utilizando el código único de cada donante y en ningún momento identificadores del mismo. El archivo .xls posee un código de acceso que solamente las investigadoras y la directora del trabajo de titulación conocen. Este archivo se mantuvo en custodia de la directora de la investigación durante el estudio y posterior al mismo durante siete años, luego de lo cual será borrado del computador o drive.

El tipo de variable a manejar en el estudio fue cuantitativa discreta y cualitativa nominal, por lo tanto se obtuvo en el programa SPSS v23.0 las frecuencias absolutas y relativas de cada variable y categoría, las mismas que se representaron en gráficas o tablas, donde se cruzaron las variables de estudio con los títulos de hemolisinas.

En la relación de variables (títulos de hemolisinas obtenidas de los sueros de CPQ de donantes grupo sanguíneo tipo “O” con las otras variables en estudio) se trabajó una prueba de χ^2 corregido (razón de verosimilitud) con un α del 0.05, ya que al transformar los títulos usados en decimales, éstos resultaron dígitos muy pequeños, por lo tanto se evitó valores sobreestimados.

3.3.6 RESULTADOS: Reporte de resultados

Los resultados de la investigación fueron sujetos a análisis y se trabajó un informe sobre los mismos que fue entregado a las autoridades del Banco de Sangre del HCAM y también se incluyó tanto los datos estadísticos como su análisis en el documento final de trabajo de titulación.

CAPÍTULO IV

4. CONTROL DE CALIDAD

Tarjetas de Coombs

Se utilizaron tarjetas de gel Coombs anti-IgG, Casa comercial Bio-Rad, Lote 50540.04.07, con fecha de caducidad 30/09/2019 y tarjetas en gel salino con lote 50531.30.2, Casa comercial Bio-Rad, fecha de caducidad: 31/01/2020.

Se verificó las especificaciones dadas por la casa comercial para la validación de los geles. (Tabla N°3). Cada lote de prueba se utilizó un suero previamente titulado y verificado por triplicado el que posteriormente fue utilizado como control interno de calidad.

Tabla 3.

Criterios para control de calidad de tarjetas Coombs anti-IgG y de gel salino

Grupo de pruebas	Temperatura de Almacenamiento	Apariencia del gel			Fecha de caducidad	Lote
		<i>Intacto</i>	<i>Sin burbujas</i>	<i>Sin cambio de color</i>		
1er grupo	20 - 25°C	✓	✓	✓	30/09/2019	50540.04.07
2do grupo	20 - 25°C	✓	✓	✓	31/01/2020	50531.30.2

Sueros utilizados como control en diluciones: se realizó diluciones seriadas dobladas para determinar el título de anticuerpos IgM e IgG y sus correspondientes lecturas. El suero utilizado fue de una paciente múltipara con títulos IgM (1/512) e IgG (1/256) verificadas por réplicas (3) de cada dilución y de un donador masculino que no toma probióticos ni ha recibido transfusiones, obteniéndose títulos de IgM e IgG (1/32) bajo la misma metodología. El análisis de concordancia (Índice de Kappa), permitió observar que el grado de acuerdo en las operadoras fue altamente significativo, con un valor entre 0,864-0,916 (Tabla N°4).

Tabla 4.

Índice Kappa de concordancia en lecturas de positividad en geles anti-IgM e IgG

Lecturas en diluciones mujer múltipara

		Valor	Error estándar asintótico ^a	T aproximada ^b	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	0,916	0,057	10,226	0,000
N de casos válidos		30			

Lecturas en diluciones hombre

		Valor	Error estándar asintótico ^a	T aproximada ^b	Significación aproximada
Medida de acuerdo	Kappa	0,864	0,074	9,135	0,000
N de casos válidos		30			

Control de Células A1B: Los kits de células A1B, de la casa comercial Bio-Rad, Lote 45101.35.1 con fecha de caducidad 06/05/2019 y Lote 45092.38.1 con fecha de caducidad 03/06/2019. Para ambos kits se evaluaron características establecidas por la casa comercial (Tabla N°5) para garantizar su viabilidad.

Tabla 5.

Criterios para control de calidad de células A1B

Kits	Temperatura de Almacenamiento	Características de las células				Fecha de caducidad	Lote
		Sin hemólisis	Sin reactividad	Sin cambio de color	Sin contaminación bacteriana		
Primero	4°C	✓	✓	✓	✓	06-08- 2019	45101.35.1
Segundo	4°C	✓	✓	✓	✓	03-09- 2019	45092.38.1

CAPITULO V

5. RESULTADOS

Descripción de la población de estudio: Se analizaron un total de 308 concentrados de plaquetas de los cuales el 50 % fueron donadas por mujeres y 50 % por hombres de una muestra tomada al azar. (Tabla N°6-Gráfico N°1).

Tabla 6.

Descripción de la población de acuerdo con el género

Género	Total de muestras analizadas	
	Frecuencia	Porcentaje
Mujeres (M)	154	50,0
Varones (V)	154	50,0
Total	308	100,0

Elaborado por: Melba López-Sandy Jácome

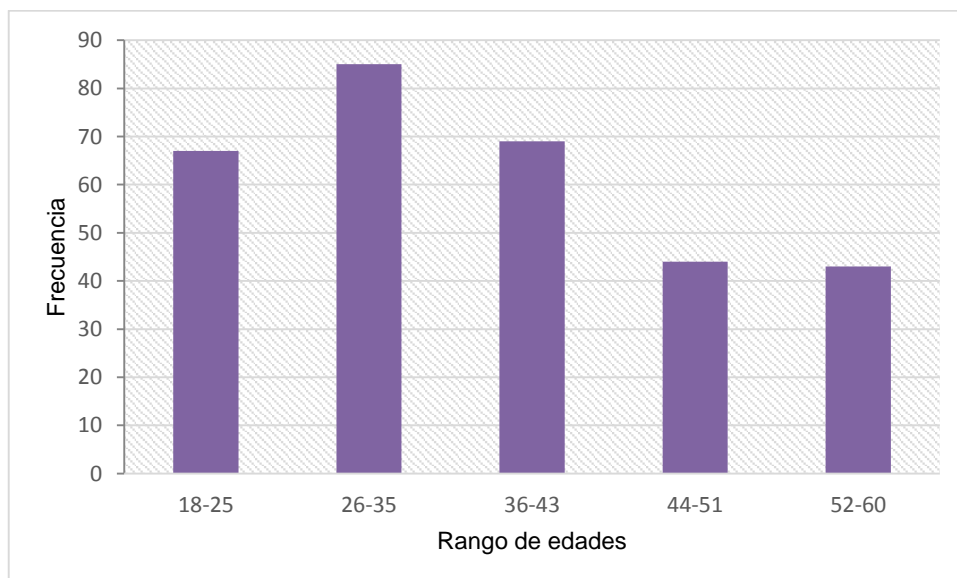


Gráfico 1. Edad de donantes de Concentrado de Plaquetas

Elaborado por: Melba López-Sandy Jácome

Presencia de hemolisinas IgM anti-A, anti-B: se identificó que existe un 18,5 % (57) de hemolisinas IgM con título de 1/256 y 31,8 % (98) en 1/128 anti-A de isotipo IgM y apenas un 1 % (3) con título 1/512. En contraste, con el título encontrado en las hemolisinas isotipo IgM anti-B que es de 22,4 % (69) en título 1/256; 28,9 % y (89) en 1/128 y el 1,3 % (4) con título 1/512. (Gráfico 2)

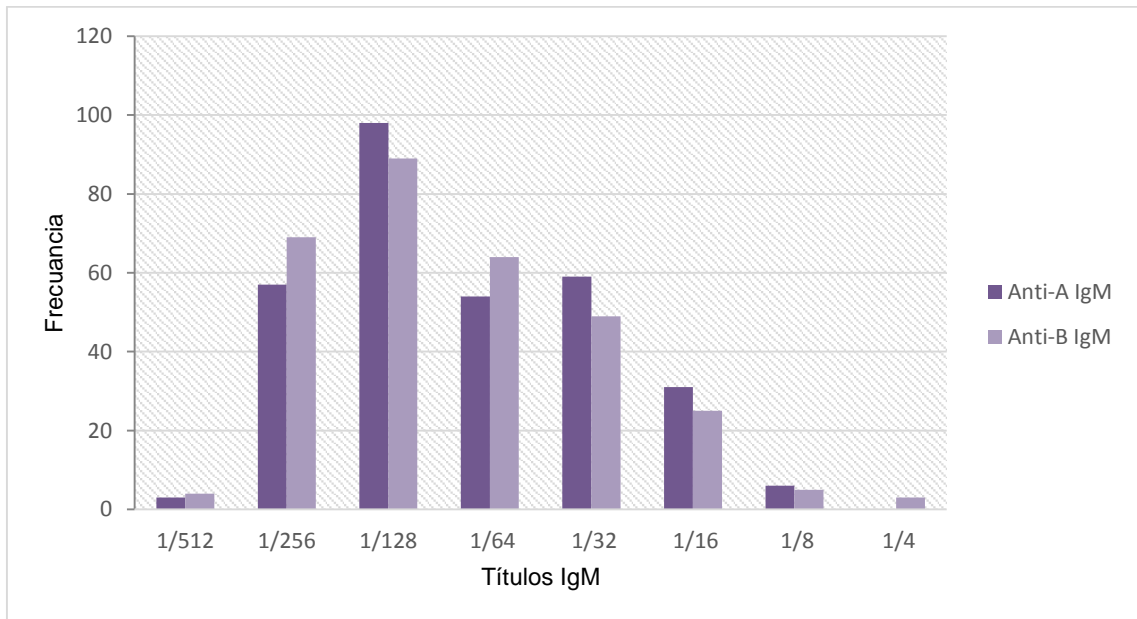


Gráfico 2. Distribución de hemolisinas anti-A y B IgM de acuerdo con la titulación

Elaborado por: Melba López-Sandy Jácome

Se observa la presencia de hemolisinas en las muestras de donantes de CPQ con título 1/128 y 1/256 de isotipo IgM tanto anti-A y anti-B.

Presencia de hemolisinas IgG anti-A, anti-B: Se identificó la existencia de títulos de hemolisinas de isotipo IgG anti-A y anti-B de hasta una dilución de 1/512 (3). Sin embargo, los títulos más frecuentes de anti-A IgG fueron los de 1/64 (125) y 1/128 (115), mientras que la hemolisina anti-B IgG se determinó en el 47,4 % (146) de las muestras analizadas con un título de 1/64 considerado nocivo y productor de hemólisis. (Gráfico N°3)

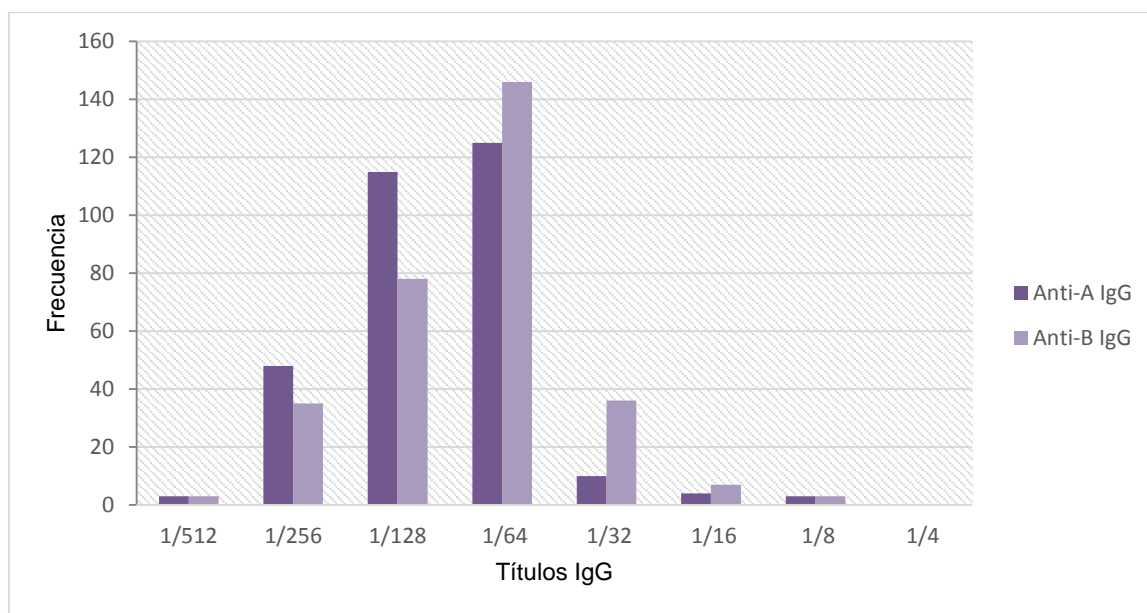


Gráfico 3. Distribución de frecuencias de hemolisinas anti-A y anti-B IgG de acuerdo a la titulación.

Elaborado por: Melba López-Sandy Jácome

Se observa la presencia de muestras de donantes de CPQ con hemolisina isotipo IgG tanto anti-A como anti-B con títulos entre 1/64, 1/128 y 1/256.

Del análisis realizado entre la presencia de hemolisinas de isotipo IgG e IgM anti-A que pueden presentarse a la vez en una persona, se estableció que existe una combinación heterogénea en la población y poco significativa ya que no depende una de la otra, encontrándose que cuando existen anticuerpos anti-A IgM en un título 1/128 puede coexistir un anti-A IgG en título que varían entre 1/32 hasta 1/512.

Sin embargo, en muestras que presentaron un título de anti-A IgM 1/512 únicamente se identificó anti-A IgG de título 1/256, siendo títulos elevados que pueden provocar una reacción hemolítica en el receptor. De igual manera ocurre en los títulos bajos de 1/8 (Gráfico N° 4).

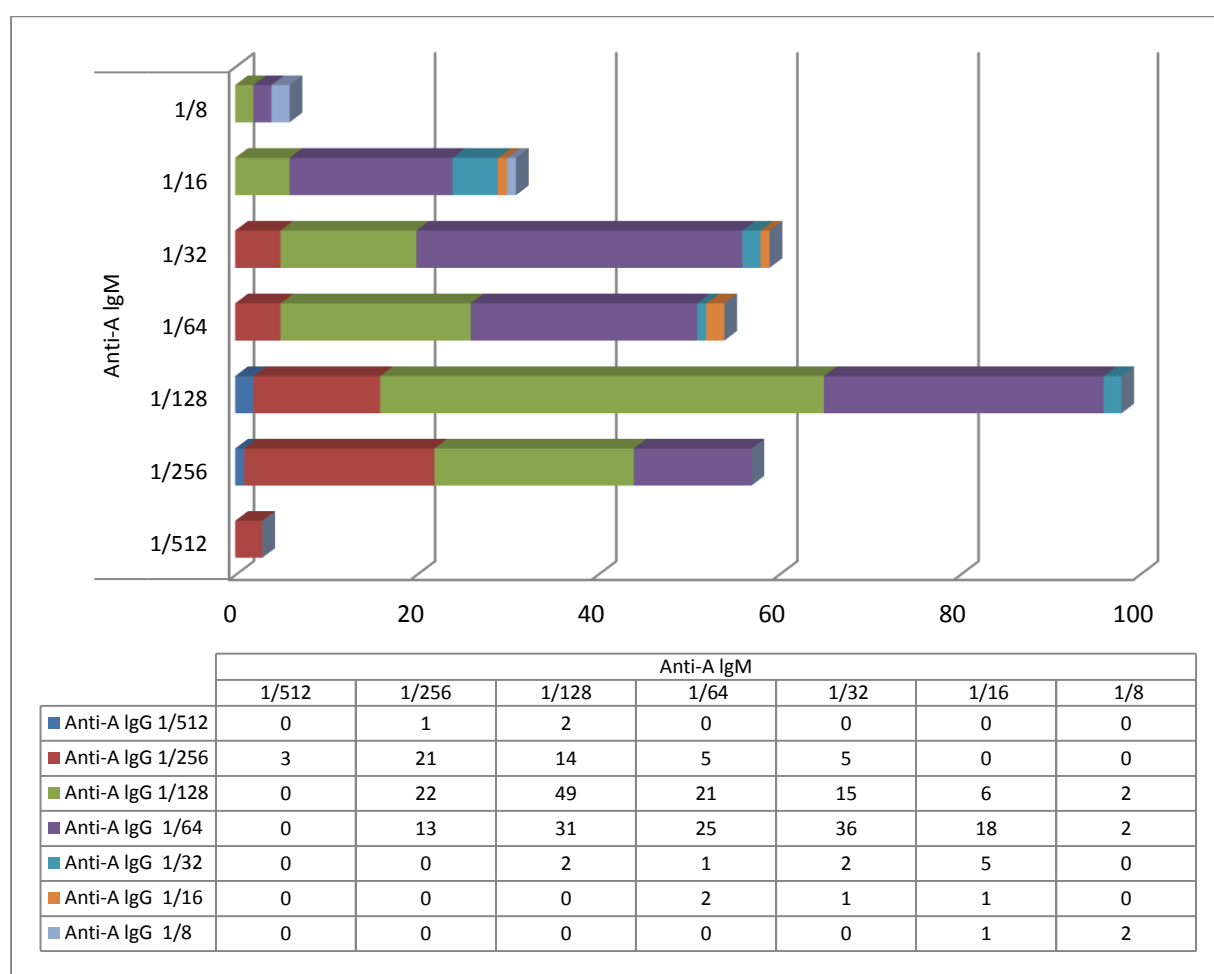


Gráfico 4. Coexistencia de hemolisinas anti-A, isotipo IgM-IgG de acuerdo al título.

Elaborado por: Melba López-Sandy Jácome

Se determinó que la coexistencia de hemolisinas de isotipo IgG e IgM anti-B en las muestras de donantes presenta un patrón diferente al de anti-A, así las muestras de donantes que presentan un título de 1/256 de IgM puede identificarse títulos entre 1/32 hasta 1/512 en IgG, mientras que en aquellas muestras que presentaron título de anti-B IgM 1/128 pueden presentar anti-B IgG entre 1/32 hasta 1/256 considerados altamente hemolíticos. (Gráfico N° 5).

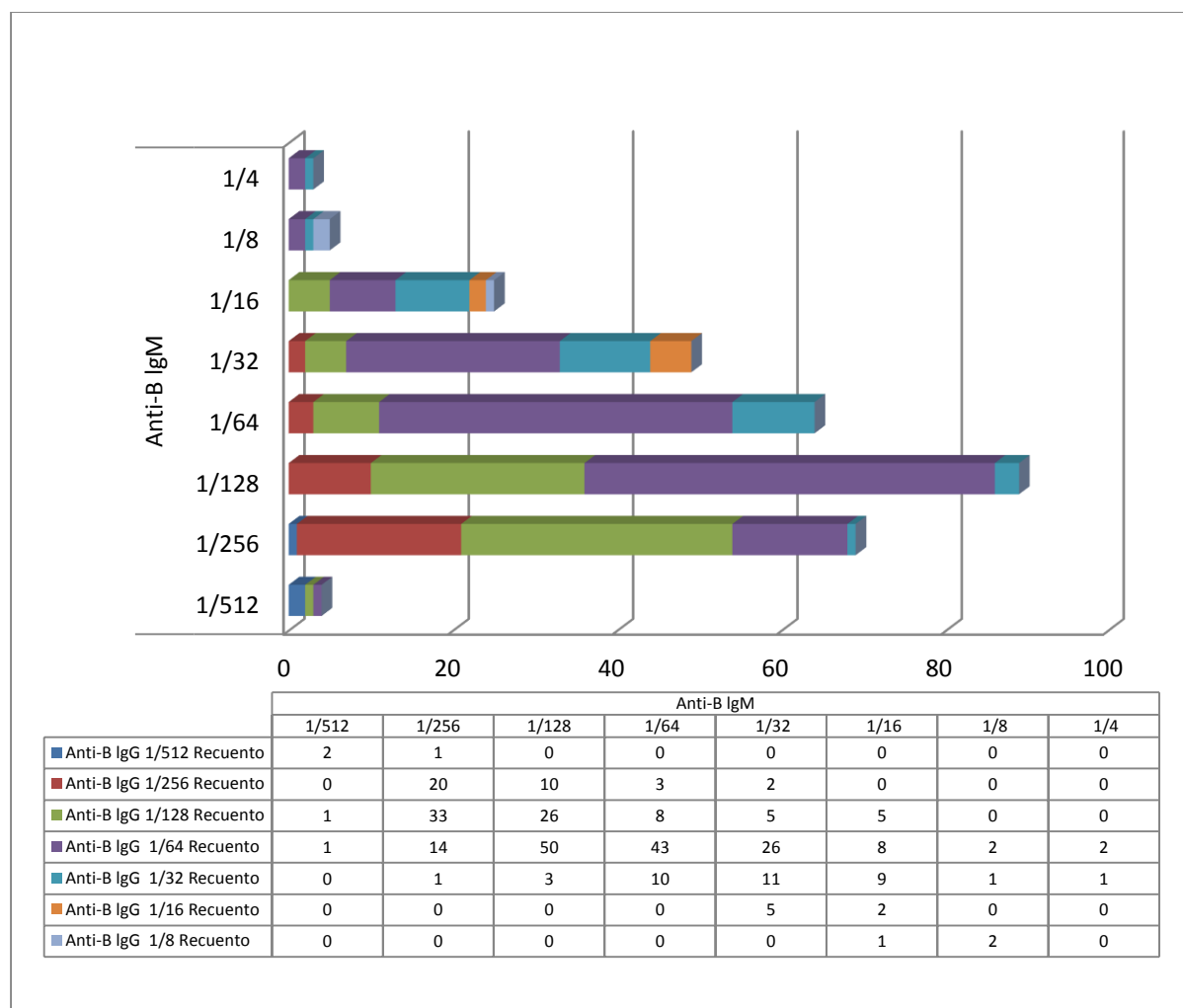


Gráfico 5. Coexistencia de hemolisinas anti-B, isotipo IgM-IgG de acuerdo al título.

Elaborado por: Melba López-Sandy Jácome

Relación de variables: *Género*: el análisis de la relación entre la presencia de hemolisinas y el género determinó que el masculino presenta un 35,06 % (54) de anti-A IgM con títulos de 1/128, mientras que en el femenino existe un porcentaje de 21,43 % (33) de anti-A IgM en títulos de 1/256, en tanto que los anti-B de isotipo IgM tiene un porcentaje de título de 27,92 % (43) en 1/256 y 1/128. Sin embargo, esta relación fue estadísticamente no significativa ($p < 0.005$) (Tabla N°7).

Tabla 7.

Relación del género y presencia de anti-A y anti-B de isotipo IgM

		Anti-A IgM y Género				Total	Valor P
		GENERO					
		Femenino	%	Masculino	%		
Anti_A_IgM	1/512	2	1,30	1	0,65	3	0.106
	1/256	33	21,43	24	15,58	57	
	1/128	44	28,57	54	35,06	98	
	1/64	35	22,73	19	12,34	54	
	1/32	25	16,23	34	22,08	59	
	1/16	12	7,79	19	12,34	31	
	1/8	3	1,95	3	1,95	6	
Total		154	100,00	154	100,00	308	

		Anti-B IgM y Género				Total	Valor P
		GENERO					
		Femenino	%	Masculino	%		
Anti_B_IgM	1/512	3	1,95	1	0,65	4	0.113
	1/256	43	27,92	26	16,88	69	
	1/128	43	27,92	46	29,87	89	
	1/64	28	18,18	36	23,38	64	
	1/32	23	14,94	26	16,88	49	
	1/16	9	5,84	16	10,39	25	
	1/8	2	1,30	3	1,95	5	
	1/4	3	1,95	0	0,00	3	
Total		154	100,00	154	100,00	308	

Se observa un porcentaje de títulos de hemolisinas fluctuante entre géneros.

Elaborado por: Melba López-Sandy Jácome

En relación con las hemolisinas anti-A y anti-B de isotipo IgG, se estableció que los títulos de 1/256 y 1/128 se encontraron con más frecuencia en el género femenino, así las IgG anti-A se encuentran en un porcentaje de 50,65 % (78) y 21,43 % (33) respectivamente, mientras que las anti-B IgG se encuentran entre el 29,87 % (46) y 15,58 % (24). Los títulos de hemolisinas anti-A y anti-B isotipo IgG 1/64 se identificaron mayoritariamente en hombres, siendo esta relación estadísticamente significativa $p < 0.005$ (Tabla N°8).

Tabla 8.

Relación del género y la presencia de anti-A y anti-B de isotipo IgG

		Anti-A IgG y Género				Total	Valor P
		GENERO					
		Femenino	%	Masculino	%		
Anti_A_IgG	1/512	0	0	3	1,95	3	0.001
	1/256	33	21,43	15	9,74	48	
	1/128	78	50,65	37	24,03	115	
	1/64	36	23,38	89	57,79	125	
	1/32	4	2,60	6	3,90	10	
	1/16	2	1,30	2	1,30	4	
	1/8	1	0,65	2	1,30	3	
Total		154	100	154	100	308	

		Anti-B IgG y Género				Total	Valor P
		GENERO					
		Femenino	%	Masculino	%		
Anti_B_IgG	1/512	3	1,95	0	0	3	0.001
	1/256	24	15,58	11	7,14	35	
	1/128	46	29,87	32	20,78	78	
	1/64	69	44,81	77	50,00	146	
	1/32	10	6,49	26	16,88	36	
	1/16	2	1,30	5	3,25	7	
	1/8	0	0,00	3	1,95	3	
Total		154	100,00	154	100	308	

Se observan títulos de hemolisinas significativas de hemólisis mayoritariamente en el género femenino.

Elaborado por: Melba López-Sandy Jácome

Embarazos: Se analizó la presencia de las hemolisinas anti-A y anti-B de isotipo IgM y los embarazos, determinándose que no existe una relación estadísticamente significativa $p > 0.5$. En contraste, la relación entre embarazos y la existencia de hemolisinas anti-A y anti-B de isotipo IgG, demostró dependencia altamente significativa con un valor de $p < 0.005$. (Tabla N°9).

Tabla 9.

Presencia de hemolisinas anti-A y anti-B de isotipo IgG en donantes que reportan embarazos previos

Anti-A IgG vs Embarazos							Anti-B IgG vs Embarazos						
		Embarazos				Total			Embarazos				Total
		0	1	2	3 a 6				0	1	2	3 a 6	
Anti_A_IgG	1/256	5	10	7	11	33	Anti_B_IgG	1/256	1	9	6	11	27
	1/128	16	19	26	17	78		1/128	13	9	18	6	46
	1/64	21	5	6	4	36		1/64	29	14	14	12	69
	1/32	5	1	0	1	7		1/32	4	3	1	4	12
Total		47	35	39	33	154	Total		47	35	39	33	154

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	32,011 ^a	15	0,006
Razón de verosimilitud	32,379	15	0,006
Asociación lineal por lineal	16,066	1	0
N de casos válidos	154		

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	31,559 ^a	15	0,007
Razón de verosimilitud	34,405	15	0,003
Asociación lineal por lineal	8,52	1	0,004
N de casos válidos	154		

Se observa la existencia de hemolisinas de isotipo IgG con mayor frecuencia en títulos de 1/64 y 1/128.

Elaborado por: Melba López-Sandy Jácome

Abortos: de igual manera que con embarazos no se obtuvo una relación estadística significativa entre la existencia de hemolisinas de isotipo IgM, sin embargo en las hemolisinas de isotipo IgG se identificó que en la muestra de donantes múltiparas, existe una mayor probabilidad de alcanzar títulos de hasta 1/512 de hemolisinas anti-B y 1/256 de anti-A, siendo esta relación significativa con un valor $p < 0.005$. (Tabla N° 10)

Tabla 10.

Presencia de hemolisinas anti-A y anti-B de isotipo IgG en donantes que reportan abortos

Anti-A IgG vs Abortos				Anti-B IgG vs Abortos					
		Abortos		Total		Abortos		Total	
		0	1-3			0	1-3		
Anti_A_IgG	1/256	19	14	33	Anti_B_IgG	1/512	0	3	3
	1/128	57	21	78		1/256	16	8	24
	1/64	33	3	36		1/128	30	16	46
	1/32	3	1	4		1/64	59	10	69
	1/8	3	0	3		1/32	10	2	12
Total		115	39	154	Total	115	39	154	

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	11,721 ^a	5	0,003
Razón de verosimilitud	13,282	5	0,001
Asociación lineal por lineal	9,274	1	0,002
N de casos válidos	154		

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	16,945 ^a	5	0,005
Razón de verosimilitud	17,183	5	0,004
Asociación lineal por lineal	10,501	1	0,001
N de casos válidos	154		

Se observa que mujeres con abortos anteriores desarrollan hemolisinas de isotipo IgG que alcanzan títulos elevados especialmente las de tipo anti-A.

Elaborado por: Melba López-Sandy Jácome

Transfusiones Sanguíneas: otra de las variables analizadas estaba relacionada con transfusiones de componentes sanguíneos, obteniéndose que el desarrollo de hemolisinas de isotipo IgM no tienen relación con un estímulo transfusional. Sin embargo, el análisis estadístico demostró que la relación entre la existencia de hemolisinas de isotipo IgG y las transfusiones era significativa con un $p < 0.005$. (Tabla N°11).

Tabla 11.

Presencia de hemolisinas anti-A y anti-B isotipo IgG en donantes que reportan transfusiones de componentes sanguíneos

Anti-A IgG vs Transfusiones Sanguíneas				Anti-B IgG vs Transfusiones Sanguíneas					
		Transfusiones		Total		Transfusiones		Total	
		0	1-2			0	1-2		
Anti_A_IgG	1/512	1	2	3	Anti_B_IgG	1/512	3	0	3
	1/256	38	10	48		1/256	28	7	35
	1/128	105	10	115		1/128	69	9	78
	1/64	123	2	125		1/64	138	8	146
	1/32	10	0	10		1/32	36	0	36
	1/8	4	0	4		1/8	7	0	7
	1/4	3	0	3		1/4	3	0	3
Total		284	24	308	Total		284	24	308

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	34,072 ^a	6	0,00
Razón de verosimilitud	27,172	6	0,00
Asociación lineal por lineal	22,909	1	0,00
N de casos válidos	308		

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	14,011 ^a	6	0,03
Razón de verosimilitud	15,739	6	0,015
Asociación lineal por lineal	10,743	1	0,001
N de casos válidos	308		

El análisis muestra que en los donantes sin transfusiones previas no existe desarrollo de hemolisinas.

Elaborado por: Melba López-Sandy Jácome

Los donantes de sangre mencionaron que los componentes sanguíneos que recibieron fueron concentrados de glóbulos rojos (21 personas); concentrado de plaquetas y glóbulos rojos (2 personas) y plasma fresco congelado (1 persona), encontrándose títulos de anti-IgG elevados. (Tabla N°12).

Tabla 12.

Tipo de hemocomponente recibido y título de hemolisinas anti-A y anti-B de isotipo IgG e IgM

Anti-IgM		Anti-IgG		Hemocomponente	Tiempo transcurrido
Anti-A	Anti-B	Anti-A	Anti-B		
1/32	1/32	1/256	1/64	CGR, CPQ	6 años
1/128	1/16	1/512	1/64	CGR, CPQ	4 años
1/64	1/128	1/128	1/64	CGR	16 años
1/8	1/16	1/64	1/128	CGR	8 años
1/64	1/128	1/256	1/256	CGR	5 años
1/256	1/128	1/256	1/256	CGR	4 años
1/32	1/256	1/256	1/256	CGR	4 años
1/32	1/64	1/256	1/128	CGR	6 años
1/32	1/16	1/128	1/128	CGR	10 años
1/128	1/32	1/128	1/256	CGR	7 años
1/64	1/128	1/128	1/128	CGR	14 años
1/64	1/256	1/128	1/128	CGR	9 años
1/256	1/512	1/256	1/128	CGR	5 años
1/128	1/128	1/128	1/64	CGR	12 años
1/128	1/128	1/128	1/64	CGR	11 años
1/128	1/256	1/256	1/128	CGR	8 años
1/128	1/256	1/256	1/256	CGR	3 años
1/128	1/256	1/128	1/64	CGR	6 años
1/64	1/128	1/256	1/128	CGR	10 años
1/128	1/128	1/256	1/256	CGR	3 años
1/256	1/256	1/512	1/256	CGR	3 años
1/16	1/128	1/64	1/128	CGR	5 años
1/128	1/128	1/128	1/64	CGR	15 años
1/256	1/128	1/128	1/64	Plasma	18 años

La tabla muestra que existe títulos entre 1/64-1/128-1/256-1/512 en muestras de donantes que recibieron transfusiones de CGR y CPQ.

Elaborado por: Melba López-Sandy Jácome

Probiótico: del análisis de resultados se establece que el desarrollo de anticuerpos anti-A y anti-B de isotipo IgM está relacionado a la toma de probióticos en forma semanal y no diariamente, resultados estadísticamente significativos con un valor $p < 0.005$ (Tabla N°13). En contraste con la presencia de hemolisinas isotipo IgG cuyo análisis no fue estadísticamente significativo ($p=0.122$), por lo tanto no está relacionado con el uso de probióticos.

Tabla 13.

Relación entre los títulos de anti-A y anti-B IgM con la ingesta de probióticos

Anti-A IgM vs Probióticos

		Probióticos				Total
		0	1-2 veces por semana	3-4 veces por semana	Diariamente	
Anti_A_IgM	1/512	1	0	2	0	3
	1/256	6	16	26	9	57
	1/128	15	47	29	7	98
	1/64	15	29	8	2	54
	1/32	15	29	11	4	59
	1/16	10	16	4	1	31
	1/8	1	4	1	0	6
Total		63	141	81	23	308

$p < 0.005$

Anti-B IgM vs Probióticos

		Probióticos				Total
		0	1-2 veces por semana	3-4 veces por semanas	Diariamente	
Anti_B_IgM	1/512	1	0	1	2	4
	1/256	5	23	33	8	69
	1/128	14	43	25	7	89
	1/64	19	35	7	3	64
	1/32	11	24	11	3	49
	1/16	9	12	4	0	25
	1/8	3	2	0	0	5
	1/4	1	2	0	0	3
Total		63	141	81	23	308

$p < 0.005$

Elaborado por: Melba López-Sandy Jácome

Edad: Se analizó la relación entre edad y hemolisinas anti-A IgM determinándose una distribución de tendencia positiva con esta: se relaciona que a menores títulos mayor edad, observándose en las desviaciones una alta variabilidad de los datos. Para el anti-A IgG se concentra en títulos de 1/512 entre 25-50 años, existe una menor distribución de 1/512, aunque la tendencia no es mayormente clara (Gráfico N° 6 y 7).

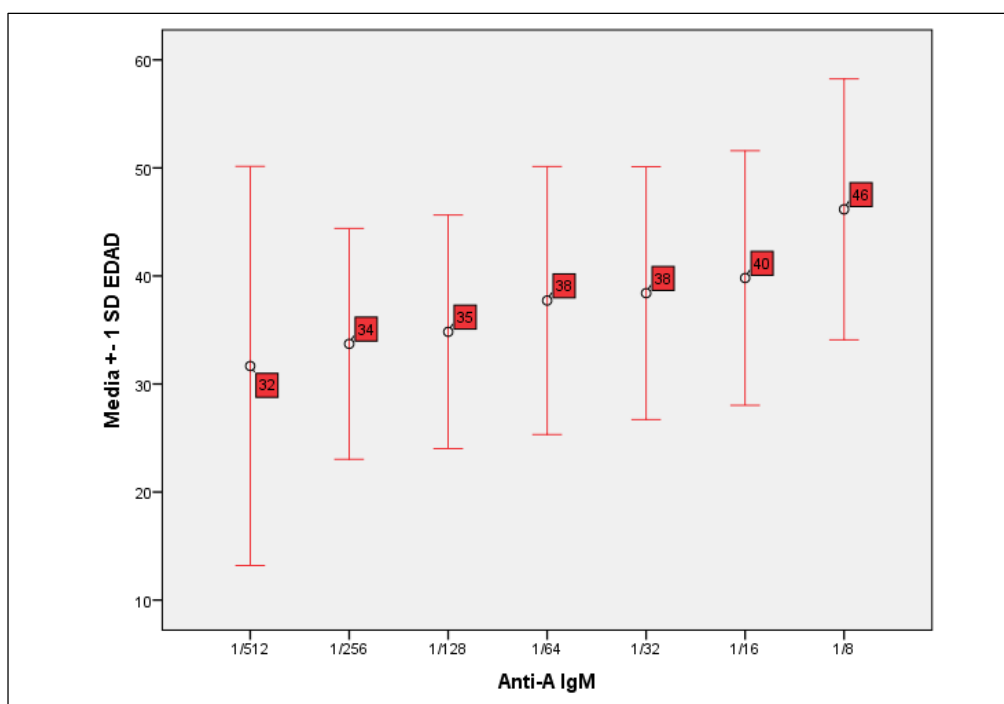


Gráfico 6 Relación entre edad y hemolisinas anti-A IgM.

Elaborado por: Melba López-Sandy Jácome

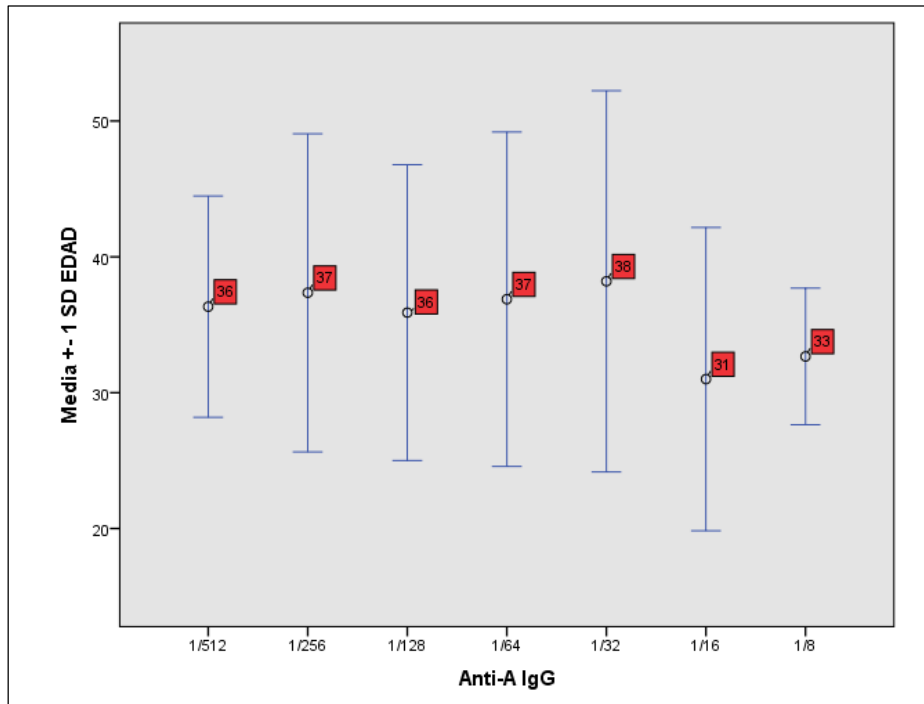


Gráfico 7 Relación entre edad y hemolisinas anti-A IgG.

Elaborado por: Melba López-Sandy Jácome

De igual manera ocurre la relación entre edad y anti-B IgM e IgG. Se observa una tendencia que a mayor edad promedio, en ambos casos los títulos son menores. Las barras indican una alta variabilidad de los datos de edad frente a la media aritmética, por lo que los resultados no deberían ser concluyentes. (Gráfico N° 8 y 9)

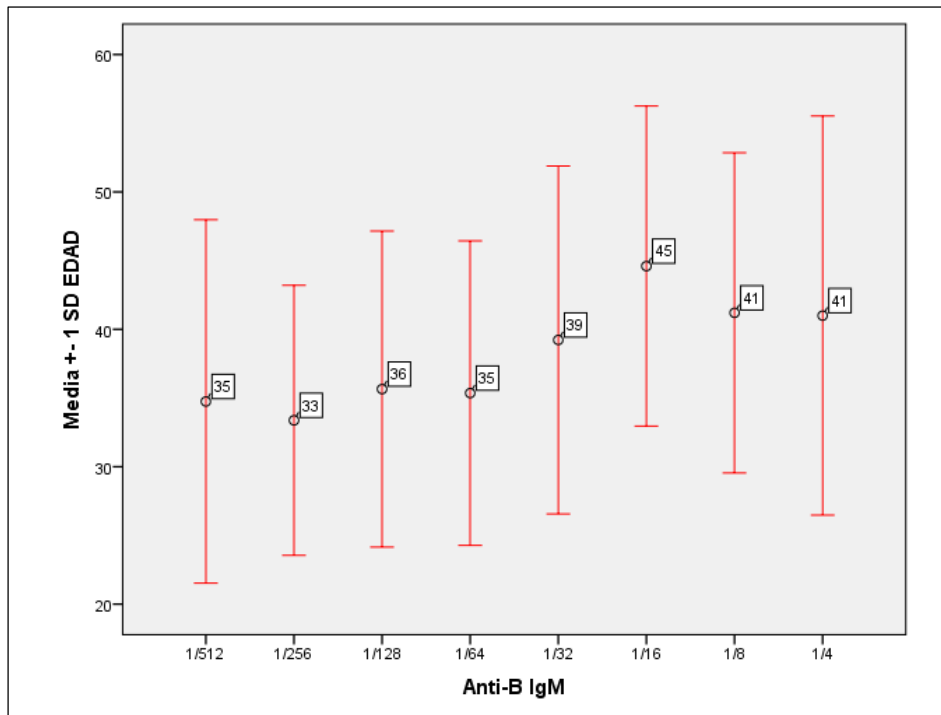


Gráfico 8 Relación entre edad y hemolisinas anti-B IgM.

Elaborado por: Melba López-Sandy Jácome

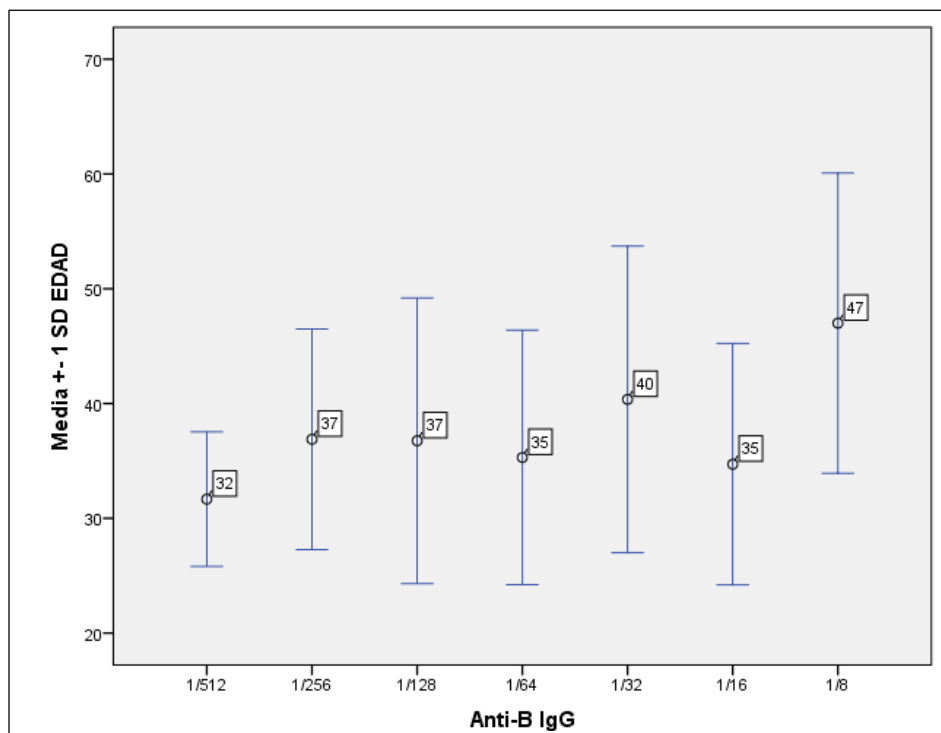


Gráfico 9 Relación entre edad y hemolisinas anti-B IgG

Elaborado por: Melba López-Sandy Jácome

5.1 DISCUSIÓN

La población de estudio estuvo constituida por el 50 % de donantes de género femenino y 50 % masculino que facilitó la relación entre las variables, se ha determinado que transfusiones de componentes sanguíneos provenientes de mujeres pueden ocasionar reacciones inmunes fatales, esto debido a que los cambios inmunológicos que ocurren en estado de gravidez son los más duraderos (Caram-Deelder, Kreuger, & Evers D, 2018). La transfusión de concentrados plaquetarios ha sido vital en pacientes con trastornos hematológicos, sin embargo, existen riesgos que han sido registrados durante las transfusiones de hemocomponentes siendo los de mayor importancia clínica las reacciones hemolíticas asociadas a la existencia de anticuerpos o hemolisinas en plasma o concentrado de plaquetas obtenidos del género femenino (Stolla, y otros, 2015).

Se ha asociado el aumento de títulos de hemolisinas anti-IgM e IgG (anti-A y anti-B) a varios factores analizados en este estudio y de implicación en hemólisis clínicamente significativa, a pesar de que es considerada una complicación rara cuando ocurre es potencialmente grave, especialmente durante la administración de concentrados plaquetarios no compatibles con el sistema ABO (Josephson, Castillejo, Grima, & Hillyer, 2010), siendo una práctica común en los Servicios de Medicina Transfusional ecuatorianos, como ocurre en el Hospital Carlos Andrade Marín, debido a la disponibilidad limitada de plaquetas isogrupo relacionado con la abundancia de donantes del grupo "O".

La determinación de los títulos de hemolisinas anti-A y anti-B de isotipo IgM e IgG considerados de significancia clínica, han sido determinados de acuerdo con los estudios realizados y el análisis de resultados obtenidos. Uno de las investigaciones estableció que las hemolisinas anti-IgM desde 1/64 pueden ocasionar hemólisis y las IgG desde 1/256 en un porcentaje entre 28-36 % (Josephson, Mullis, Van Demark, & Hillyer, 2004), en el presente estudio se identificaron títulos similares a los mencionados en esta investigación por lo que pueden ser considerados CPQ de riesgo para receptores de grupo A o B.

Otras investigaciones relacionadas con determinar en ¿qué títulos de IgG y volúmenes transfundidos ocasionan reacciones hemolíticas?, observaron que al aumentar los títulos de anti-A y B y volúmenes de plasma en los CPQ ocasionaban una caída de hemoglobina en los pacientes compatible con reacción hemolítica (Karafin M. , y otros, 2012) (Dunbar, Ornstein, & Dumont, 2012). Los títulos identificados fueron $\geq 1/512$ en el 10 % y $\geq 1/256$ en el 26,3 %, siendo hallazgos consistentes en otras investigaciones como Larsson, y Josephson 2004. (Larsson, Welsh, & DJ., 2004) (Josephson, Mukllis, Van Denmark, &

CD., 2004). De igual manera se encontraron en este estudio títulos de hemolisinas IgG anti-A hasta 1/512, siendo los títulos más frecuentes 1/64 y 1/128, para hemolisinas IgG anti-B el 47,4 % presentaron títulos nocivos para desencadenar hemólisis de 1/64.

También se identificó que las hemolisinas de isotipo IgM anti-A presentan un título desde 1/128 con el 31.8 % (98) hasta 1/512 con el 1 % (3). El estudio realizado en Estados Unidos menciona que del 10 al 40 % de pacientes reciben CPQ con incompatibilidad ABO, considerando que el riesgo de una reacción hemolítica varía entre 1 caso en 2.000 para anti-A y 1 en 46.176 para anti-B (Karafin, y otros, 2012), a pesar de ello, se ha asociado el desarrollo de sintomatología relacionada con reacción hemolítica en adultos que recibieron transfusiones con títulos menores a 1/128 de anti-A, títulos encontrados también en este estudio.

El estudio de caso en un individuo de 53 años con adenocarcinoma, grupo sanguíneo B que recibió una transfusión emergente de plaquetas grupo A, sufrió una reacción hemolítica aguda, la investigación de hemolisinas determinó un título de anti-B IgM 1/256 con IgG 1/512 (Shachner & Clark, 2018). En este estudio se determinó 4 donantes con títulos de IgM 1/512 e IgG entre 1/512, 1/256 y 1/128, es decir títulos elevados que pueden desencadenar hemólisis en pacientes grupo B como lo menciona la literatura, lo que no fue comprobado porque se alertó al banco de sangre y fueron descartados inmediatamente los CPQ.

También se reportaron dos casos de reacciones hemolíticas post-transfusionales luego de la transfusión de CPQ grupo A, en pacientes de grupo sanguíneo B. El primer caso fue a un individuo de 40 años con leucemia mieloide aguda y el segundo caso en un niño de 5 años con diagnóstico de anemia aplásica, las investigaciones demostraron un elevado título de anti-B $>1/1028$, asociado con la ingesta de probióticos en un donante repetitivo quien en los últimos meses había empezado a utilizar esta dieta (Daniel-Johnson, y otros, 2009). En el presente estudio se determinó la existencia de anti-B IgM en un título de 1/256 (22,4 %) y 47,4 % con título de 1/64.

A pesar de los estudios realizados aún no se establece el título máximo permitido para una transfusión inocua, existe en los investigadores un interés creciente en definir niveles de títulos críticos para una transfusión segura (Tendulkar, Jain, & Velaye, 2017). Así, en El Reino Unido se decidió etiquetar aquellos hemoderivados con títulos $\geq 1/100$ como altos y autorizar transfusión solo a los de grupo "O". En India hay escasez de estándares por lo que es difícil determinar el nivel de anticuerpos, en Estados Unidos de igual manera se

determinó como títulos nocivos los superiores a 1/64 por los análisis previos que indican presencia de hemólisis (Tendulkar, Jain, & Velaye, 2017). En este estudio se encontró una elevada concentración de CPQ con títulos 1/128 tanto en IgM como IgG lo que debe ser considerado para estudios posteriores o inclusión de esta titulación de anticuerpos.

La investigación de *Medécigo y otros* en el 2013, determinaron que el 48 % presentaron títulos peligrosos para IgM, de los cuales 27 % fueron anti-A y 39 % anti-B, lo que se asemeja a nuestro estudio que para anti-B IgM se tuvo una mayor prevalencia sobre los anti-A IgM. En contraste con el estudio de *Josephson y colaboradores* en el 2004 menciona que se obtuvo títulos altos anti-A y anti-B para IgM del 10 %, lo que es un porcentaje bajo en comparación a nuestros valores obtenidos.

El análisis de la presencia de hemolisinas IgM anti-A y anti-B relacionadas con el género no fue estadísticamente significativa, sin embargo, en el estudio de las hemolisinas de isotipo IgG existió una relación con el género femenino ($p < 0.005$), similar a un estudio realizado en Brasil, donde determinaron títulos de 1/128 de anti-A y B relacionados con el género femenino (de França, Poli, Ramos, Borsoi, & Colella, 2011). También, en el Hemocentro de Belo Horizonte, Minas Gerais, determinaron que existe una alta frecuencia de hemolisinas en donantes mujeres que en hombres ($p = 0,019$) (Godin, y otros, 2016), los investigadores relacionan que la alta frecuencia de donantes con título elevados de hemolisinas tanto IgG e IgM puede deberse a varios factores entre ellos la microbiota intestinal, parasitosis, vacunas recientes o exposición a otros antígenos.

En el presente estudio se determinó un grado altamente significativo de concordancia entre las variables de embarazos y abortos, con un $p = 0.006$ para anti-A IgG y $p = 0.003$ para anti-B IgG, se conoce que mujeres con fetos incompatibles en el sistema ABO desarrollan una memoria inmunológica, que da como resultado títulos elevados de anti-A ó anti-B que perduran por mucho tiempo en el organismo, dando como resultado donantes de alto riesgo para CPQ y plasma, por lo que las investigaciones concluyen que en mujeres con embarazos previos o abortos, son un factor significativo de producción de hemolisinas (Godin, y otros, 2016) .

Adicionalmente, se estableció que existe relación entre la producción de hemolisinas de isotipo IgG con las transfusiones sanguíneas, los encuestados mencionaron que recibieron concentrados de glóbulos rojos, plaquetas y plasma en algún momento de su vida. De acuerdo a los lineamientos de reanimación de emergencia para salvar vidas, el

riesgo de reacciones post-transfusionales entre grupos no isotipo constituye un riesgo, ya que desarrollan complejos inmunes circulantes en el plasma del receptor, los cuales van a generar aglutinación de glóbulos rojos y posteriormente destrucción de los mismos, pero cabe recalcar que su beneficio es más importante (Dunbar, Ornstein, & Dumont, 2012) (Berséus, et. al., 2013), por lo que es una práctica común en todos los servicios de medicina transfusional, aunque ocasionan aumento en los títulos de hemolisinas sin considerar que los receptores de hemocomponentes con el tiempo se convierten en donantes de sangre.

Además se estableció que el desarrollo de anticuerpos IgM está relacionado con la ingesta de probióticos especialmente en aquellos que lo consumen entre 3 a 4 veces por semana, en la investigación de *Geraldo y otros* en el 2016 no se encontró ninguna relación entre las bifidobacterias intestinales y el título de anticuerpos ABO (Geraldo, de Souza, & Martinello, 2016), en contraste en la investigación realizada en un caso de un individuo de 40 años por reacción hemolítica luego de una transfusión, determinó que el donante había ingerido probióticos, algunas formulaciones contienen antígenos de tipo B que estimulan la producción de anti-B en títulos altos, siendo común en personas de grupo sanguíneo A (Daniel-Johnson, y otros, 2009). Los estudios de *Khampanon, 2012* y *Quillen, 2011* concuerdan que al pasar el tiempo la ingesta de bacterias vivas como yogurt y probióticos generan títulos de hemolisinas anti-A y anti-B altos (Khampanon, et. al., 2012) (Quillen, et. al., 2013)

Finalmente, la edad fue otra característica estudiada estableciéndose que existe una distribución con una gran variabilidad en relación con los títulos de hemolisinas encontrados y que disminuyen con los años, donde se evidenció que los donantes de 18 a 25 años alcanzaron títulos $\geq 1/128$ anti-A, resultados similares al estudio de *Khampanon y otros en el 2012*, que demuestran que dependiendo de la edad del donante los títulos anti-A y anti-B IgM disminuyen significativamente (Khampanon, et. al., 2012). De la misma manera un estudio realizado en el Banco de Sangre de Belo Horizonte, Minas Gerais, menciona que los donantes de 18-28 años muestran títulos altos de hemaglutininas comparados con donantes mayores de 49-58 años (Godin, et. al., 2016).

Estos resultados ponen de manifiesto que existe en la población de donantes ecuatorianos título elevados de hemolisinas por lo que las autoridades deben analizar la probabilidad de incluir estas pruebas antes de transfusión de CPQ, en caso de no contar con plaquetas isogrupo.

5.2 CONCLUSIONES

- Se determinó la existencia de donantes con títulos elevados de hemolisinas tanto de tipo naturales como inmunes (IgM e IgG), las cuales se adquieren frente a la exposición de un antígeno desconocido.
- Predominan las hemolisinas de isotipo IgM anti-A y anti-B en título de 1/128, mismas que pueden ser causantes de reacciones hemolíticas post-transfusionales.
- Existe una mayor frecuencia de hemolisinas isotipo IgG anti-A y anti-B en título 1/64, que no se consideran perjudiciales para el receptor.
- Se observó la presencia de combinación de hemolisinas isotipo IgM e IgG con títulos elevados considerados causantes de reacciones hemolíticas de acuerdo con la literatura.
- Las causas de producción de títulos elevados de hemolisinas isotipo IgG fueron determinadas con un valor $p < 0.005$ y está relacionado con las variables de género, embarazo, abortos y transfusiones.
- La presencia de hemolisinas isotipo IgM está relacionada con la ingesta de probióticos y la edad.
- Los donantes jóvenes alcanzan títulos $> 1/128$ IgM a comparación de donantes mayores a 50 años.

5.3 RECOMENDACIONES

- En lo posible se sugiere realizar transfusiones plaquetarias isogrupo ABO.
- Al no obtener un stock de plaquetas isogrupo ABO se recomienda realizar la titulación de hemolisinas isotipo IgG e IgM anti-A y anti-B para prevenir reacciones hemolíticas post-transfusionales.
- Es importante tomar en cuenta la procedencia de plaquetas (sangre total o aféresis) debido al volumen sustancial de plasma que puede contener títulos elevados de hemolisinas isotipo IgG e IgM anti- A y anti-B ($>1/64$), donde se debería utilizar en pacientes grupo "O" y reducir el volumen del mismo sin afectar la viabilidad de las plaquetas.
- Realizar nuevos estudios nos permitirá determinar el título de hemolisinas permitido para transfusiones seguras de concentrados de plaquetas.

- Incluir este nuevo conocimiento en los procedimientos transfusionales que se llevan a cabo en el servicio de medicina transfusional.
- En las entrevistas previas a la donación se recomienda indagar sobre la ingesta de probióticos y vacunas como toxoide tetánico, vacuna tifoidea y ciertas preparaciones farmacéuticas que contienen sustancias de grupos sanguíneos.

5.4 BIBLIOGRAFÍA

Alberto, A. G. (2009). Sistema de grupo sanguíneo ABO. *Medicina y Laboratorio: Programa de educación continua certificada Universidad de Antioquia*, 15, 7-8.

Aliano Palomino, E. D. (2018). Satisfacción en donantes de plaquetoféresis. Servicio de Banco de Sangre, Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. *Disertación Repositorio Universidad Nacional Federico Villarreal. Hemoterapia y Banco de Sangre.*, 21 - 32.

American Association of Blood Banks & Asociación Argentina de Hemoterapia e Inmunohematología. (2012). *Manual Técnico*. Argentina.

Arbeláez, C. (Julio de 2009). Sistema de grupo sanguíneo ABO. En C. A. García, *Banco de Sangre* (Vol. 15, págs. 329-346). Colombia: Editora Médica Colombiana S.A.

Bejerano Pérez, Neyda; García Bejerano, Diego; Pimentel Figueroa, Carlos Alberto. (Febrero de 2016). Discrepancias en el agrupamiento del sistema de grupos sanguíneos ABO. *Revista de Ciencias Médicas de Pinar del Río*, 20, sp.

Bendezú Ibarra, F. B. (2015). Características epidemiológicas del uso clínico de hemocomponentes. *Disertación de Repositorio de Universidad San Martín de Porres.*, 49-102.

Berséus, O., Boman, K., Nessen, S., & Westerberg. (2013). Risks of hemolysis due to anti-A and anti-B caused by the transfusion of blood or blood components containing ABO-incompatible plasma. *Transfusion*, 53 Suppl 1:114S-123S. doi: 10.1111/trf.12045.

Cruz Roja Ecuatoriana. (2018). Ministerio de Salud y Cruz Roja buscan crear una base de datos de los tipos de sangre. *El Comercio Ec*, sp.

Daniel-Johnson, K., Leitman, J., Quillen, J., Klein, H., Alter, Lee-Stroka, H., . . . Pantin, P. (2009). Probiotic-associated high-titer anti-B in a group A platelet donor as a cause of severe hemolytic transfusion reactions. *Transfusion.*, 49(9): 1845–1849. doi: 10.1111/j.1537-2995.2009.02208.x.

de França, N., Poli, M., Ramos, P., Borsoi, C., & Colella, R. (2011). Titers of ABO antibodies in group O blood donors. *Revista brasileira de hematologia e hemoterapia.*, 33(4), 259–262. doi:10.5581/1516-8484.20110073.

Dugdale, D. (Septiembre de 2014). Antibody titer. *Medical Encyclopedia*, sp.

Dunbar, N., Ornstein, D., & Dumont, L. (2012). ABO incompatible platelets: risks versus benefit. *Curr Opin Hematol.* , 19(6):475-9. doi:10.1097/MOH.0b013e328358b135.

Geraldo, A., de Souza, A., & Martinello, F. (2016). Relationship between intestinal bifidobacteria content and ABO antibody titer. *International Journal of Microbiology and Immunology Research*, 1-8.

Godin, M., Souza, L. O., Schmidt, L., Vieira, L., Diniz, R., & Dusse, L. (2016). Dangerous universal donors: the reality of the Hemocentro in Belo Horizonte, Minas Gerais. . *Rev Bras Hematol Hemoter.* , 38(3):193–198. doi:10.1016/j.bjhh.2016.05.007.

INEC. (2019). Instituto Nacional de Estadísticas y Censo.

Josephson, C., Castillejo, M., Grima, K., & Hillyer, C. (2010). ABO-mismatched platelet transfusions: strategies to mitigate patient exposure to naturally occurring hemolytic antibodies. *Transfus Apher Sci.*, 42(1):83-8.

Josephson, C., Mukllis, N., Van Demark, C., & Hillyer, C. (2004). Significant numbers of apheresis-derived group O platelet units have “high-titer” anti- A/A,B: implications for transfusion. *Transfusion*, 44:805-8.

Karafin, M., Blagg, L., Tobian, A., King, K., Ness, P., & Savage, W. (2012). ABO Antibody Titers are not Predictive of Hemolytic Reactions Due to Plasma Incompatible Platelet Transfusions. *Transfusion*, 1-3.

Khampanon, K., Chanprakop, T., & Sriwanitchrak, P. (2014). The Characteristics of ABO Antibodies in Group O Thai Blood Donors. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 23–226.

Larsson, L., Welsh, V., & DJ., L. (2004). Acute intravascular hemolysis secondary to out-of-group platelet transfusion. *Transfusion.*, 40:902–906.

Medécigo Lira, A. L., Cázares Tamez, R., Pérez Chávez, F., & Díaz Olachea, C. (2013). Prevalencia de disponentes de plaquetas con títulos altos de anti-A y anti-B. *Rev Latinoam Patol Clin Med Lab*, 2013; 60 (4): 230-234.

Miño Lara, I. (2016). La donación voluntaria y repetitiva de sangre. *Ministerio de Salud Pública - Ecuador*.

Oyedeggi, O. A., Adeyemo, T. A., Ogbenna, A. A., & Akanmu, A. S. (14 de Marzo de 2015). Prevalence of anti-A and anti-B hemolysis among blood group O donors in Lagos. *Nigerian Journal of Clinical Practice*, 328-332.

Parra Arancibia, J., & Toro Opazo, C. (2017). Frecuencia de sistemas sanguíneos de importancia clínica en la población de la ciudad de Talca. *Disertación repositorio Talca Universidad de Chile*, 10-21.

Quillen, K., Sheldon, S. L., & Flegel, W. A. (Junio de 2013). A practical strategy to reduce the risk of passive hemolysis by screening plateletpheresis donors for high-titer ABO antibodies. *Transfusion*, 51(1), 92–96. <http://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2010.02759.x>.

Ramírez González, J., Trujillo Castro, S., Donado Gómez, J., Barco Atehortúa, G., & Jaramillo Velásquez, S. (2014). Frecuencia de grupos sanguíneos ABO y Rh en donantes del banco de sangre del Hospital Pablo Tobón Uribe, entre 2000 y 2009, 50 años después del primer trabajo realizado en Medellín. *Medicina & Laboratorio*, 1-2.

Salazar Torres, L., & Ávila Gamboa, D. (2014). Inmunología perinatal. *FEMINA*, 186-192.

Sandoval, C. (Diciembre de 2014). Frecuencia de antígenos eritrocitarios del sistema ABO y Rh (D) en la etnia Weenhayek o Matacos, asentada en el Chaco boliviano, Sucre 2010. *Revista de Energía Química y Física*, 1, 60 - 95.

Sandoval Pinzón, L. F., & Herrera Jiménez, G. (2009). Anticuerpos irregulares en la medicina transfusional. *Revistas Biomédicas Latinoamericanas*, 22-24.

Sprogøe, U., Yazer, M., Rasmussen, M., Antonsen, B., Bistrup, C., & Assing, K. (2017). Minimal variation in anti-A and -B titers among healthy volunteers over time: Implications for the use of out-of-group blood components. *J Trauma Acute Care Surg*. 2017, Jun;82(6S Suppl 1):S87-S90.

Stolla, M., Refaai, M., Heal, J., Spinelli, S., Garraud, O., Phipps, R., & Blumberg, N. (2015). Platelet transfusion - the new immunology of an old therapy. *Frontiers in immunology*, 6, 28. doi:10.3389/fimmu.2015.00028.

Tendulkar, A., Jain, P., & Velaye, S. (2017). Antibody titers in Group O platelet donors. *Asian J Transfus Sci.*, 11(1):22–27. doi:10.4103/0973-6247.200765.

Valsami, S., Dimitroulis, D., & Gialeraki, A. (2015). Current trends in platelet transfusions practice: The role of ABO-RhD and human leukocyte antigen incompatibility. *Asian Journal of Transfusion Science*, 117-123.

Wolfram, W., Sauerwein, K. M., Binder, C. J., Eibl-Musil, N., Wolf, H. M., & Fischer, M. B. (14 de Noviembre de 2016). Pneumococcal Polysaccharide Vaccination Elicits IgG Anti-

A/B Blood Group Antibodies in Healthy Individuals and Patients with Type I Diabetes Mellitus. *Frontiers in Immunology*, sp.

5.5 ANEXOS

Anexo 1: Determinación de IgG e IgM en tarjetas de gel

INTERPRETACION EN EL GEL

REACCIÓN NEGATIVA
0
* GR en el fondo
* Superficie plana

REACCIÓN POSITIVA
±
* Borde irregular hasta el 25 %

REACCIÓN POSITIVA
1+
* GR dispersos desde el fondo cónico al 50 %

REACCIÓN POSITIVA
2+
* GR dispersos desde el 25 % al 75 % en todo el gel

REACCIÓN POSITIVA
3+
* GR desde la superficie penetrando hacia el gel
* GR sobre el 50 %

REACCIÓN POSITIVA
4+
* GR en línea compacta sobre el gel

REACCIÓN POSITIVA
DP
* GR desde la superficie penetrando hacia el gel entre 3+ a 1+
* GR2 en el fondo del gel

bitro
diagnóstico

Quito: Pedregal N34-42 y Rumipamba Telf: 2243-800 / 2256-064 Telefax: 2435-401
Guayaquil: 9 de Octubre N° 1703, Cond. La Concordia P. 5 Of. 502 Telf.: 2511-738
E-mail: gerencia@bitrodiagnostico.com / administracion@bitrodiagnostico.com
www.bitrodiagnostico.com

Coombs-Control IgG

Coomb's Control IgG

Español

B109510 10.13

humana

Eritrocitos para el control de la prueba de antiglobulina

Identificación del producto: 16070

INTRODUCCIÓN

Bio-Rad "Coombs-Control IgG" se emplea para confirmar la presencia de anti-IgG funcional después de un resultado negativo en la prueba de la antiglobulina en tubo. Un resultado positivo asegura que el lavado ha eliminado totalmente las proteínas no fijadas a los hematíes, antes de añadir la antiglobulina humana (AGH) a la reacción. Es de vital importancia confirmar esto, porque incluso pequeñas trazas de suero o plasma que permanezcan en el medio de reacción después de la fase de lavado pueden neutralizar la AGH, dando un resultado falsamente negativo o una reacción positiva debilitada.

REACTIVOS

IVD

"Coombs-Control IgG", eritrocitos sensibilizados con IgG, en suspensión al 4% \pm 1%, listos para usar, en frascos de 10 ml.
Conservantes: los antibióticos trimetoprim y sulfametoxazol.

Precaución: los materiales utilizados en la elaboración de estos productos resultaron ser no reactivos para HBsAg, VHC y VIH (1+2) en pruebas con reactivos autorizados. Sin embargo, no se conoce ningún método de prueba que pueda garantizar completamente la ausencia de agentes infecciosos. Los productos derivados de sangre humana deben considerarse como potencialmente infecciosos.



Estabilidad: véase fecha de caducidad en la etiqueta.

OTROS MATERIALES NECESARIOS

- Tubos de suspensión
- Gradilla para tubos
- Pipeta
- Centrifuga inmunohematológica
- Estufa para incubación a 37 °C

PRUEBA EN TUBO

1. Resuspensiona cuidadosamente los eritrocitos IgG-Control en el frasco.
2. Añada 1 gota de "Coombs-Control IgG" a cada prueba AGH con reacción negativa o dudosa.
3. Mezcle bien y centrifugue 20 segundos a 1000 g o 1 minuto a 125 g.
4. Resuspensiona cuidadosamente los eritrocitos y realice una observación macroscópica sobre una fuente de luz indirecta y compruebe si existe aglutinación.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Agglutinación de los eritrocitos control (véase el apartado "Observaciones")
presencia de anti-IgG funcional en la prueba AGH. Por consiguiente, se confirma el resultado negativo de la prueba AGH.

Ausencia de aglutinación de los eritrocitos control:

ausencia de anti-IgG funcional en la prueba AGH. Por tanto, el resultado negativo de la prueba AGH no es válido, y la prueba debe repetirse.

Agglutinación débil de los eritrocitos control (véase el apartado "Observaciones")

puede haberse neutralizado la anti-IgG incluida en la prueba de AGH. Debe repetirse la prueba AGH.

OBSERVACIONES

- a) Cada laboratorio debe estandarizar su procedimiento de AGH (lavado, centrifugación, adición de suero AGH y técnica de lectura) de modo que los resultados efectivamente negativos en la fase de AGH, den reacciones de intensidad óptima con los eritrocitos "Coombs-Control IgG", a fin de facilitar la interpretación de aglutinaciones débiles. El procedimiento de utilización de la célula "Coombs-Control IgG", debe también estandarizarse como parte del proceso de interpretación de la prueba de AGH.
- b) No deben utilizarse eritrocitos "Coombs-Control IgG" que presenten hemólisis.
- c) Una conservación o manipulación inadecuada puede provocar la pérdida de actividad de los eritrocitos control.

PRODUCTOS

Coombs-Control IgG

1 x 10 ml REF 109510

Se garantiza que estos productos se comportarán según lo descrito en la etiqueta y en la hoja de instrucciones. El fabricante declina toda responsabilidad en caso de que los productos se utilicen o vendan para cualquier otro uso diferente de los allí descritos.

Cambios en la versión 08.10 están sombreadas en gris.

DiaMed GmbH
Pra Rond 23
1785 Cressier FR
Suiza

CE
0123

BIO-RAD

Anexo 2: Consentimiento informado

CONSENTIMIENTO INFORMADO

PARTE I: CONSENTIMIENTO INFORMADO DIRIGIDO A ADULTOS DONANTES DE SANGRE DE GRUPO SANGUÍNEO O

Investigadoras principales: Sandy Jácome y Melba López, estudiantes de la Carrera de Bioquímica Clínica de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE).

Título de la investigación: Presencia de hemolisinas anti-A y anti-B en concentrados de plaquetas obtenidas de donantes de sangre de grupo sanguíneo O en el Banco de Sangre del Hospital Carlos Andrade Marín en el año 2019.

Objetivo: determinar la presencia de sustancias que puedan causar algún tipo de reacción adversa (náuseas, escalofrío, fiebre, reacciones alérgicas, dolor) a los receptores de concentrados plaquetarios.

Introducción: Nosotras Sandy Jácome y Melba López, estudiantes de la PUCE, estamos investigando sobre la presencia de una sustancia llamada hemolisina que podría causar daño a la persona que reciba una parte de su sangre, esta parte es denominada *concentrado de plaquetas*. Esto ayudará a darle un mejor uso a su donación de sangre, por ejemplo, solo para personas que tenga su mismo grupo sanguíneo.

Procedimiento: se le pedirá que llene un cuestionario para obtener información de sus datos personales (edad, sexo), conocer si ha recibido sangre anteriormente, si ha tenido embarazos previos (en mujeres) y también información relacionadas a su hábito alimenticio. Posteriormente, de los tubos que le extraen a usted en el proceso de donación, tomaremos una mínima cantidad (0.500 mL) para analizar los títulos anti-A y anti-B presentes en una parte de su sangre (suero), cabe recalcar que no se le intervendrá para la realización de otro pinchazo.

Duración: en el proceso de donación usted tendrá que disponer de aproximadamente 45 minutos, de los cuales nosotras utilizaremos 15 minutos comprendidos dentro del mismo proceso.

Participación voluntaria: usted es libre de decidir si desea o no participar en el estudio.

Confidencialidad: toda la información recolectada en la encuesta será usada exclusivamente para este estudio. Las muestras de sangre no serán almacenadas para futuras investigaciones. A cada muestra de sangre se le otorgará un código exclusivo para cada participante, igual que a la encuesta para custodiar su confidencialidad.

Beneficios (individual y social): usted no tendrá ningún beneficio directo ni inmediato, sin embargo, con su participación, en un futuro podremos disminuir el riesgo de reacciones adversas (destrucción de glóbulos rojos), ocasionadas por recibir transfusiones de plaquetas con títulos anti-A y anti-B elevados.

Riesgos o molestias: su participación en el estudio no tiene molestia alguna, pero los riesgos que presente usted serán los propios relacionados con la donación de sangre (fiebre, reacciones alérgicas, escalofríos, náuseas, etc.), los mismos que serán atendidos por los médicos o a su vez por el personal capacitado del Banco de Sangre del HCAM.

Costos, incentivos o recompensas: usted no recibirá ningún tipo de recompensa por participar en el estudio.

Derecho a retirarse: en caso de negarse a participar en este estudio, no habrá problema alguno. Usted puede dejar de participar en la investigación en cualquier momento que lo desee.

Manejo de datos y resultados: los datos obtenidos serán almacenados por un lapso de 7 años, posteriormente serán eliminados de cualquier registro que haya sido utilizado como fuente de almacenamiento de datos.

A quién contactar: en caso de tener alguna pregunta acerca de esta investigación por favor contáctese con: Sandy Jácome Telef. 0999729591, e-mail: sjacome224@puce.edu.ec y Melba López, Telef. 0982419469, e-mail: mlopez621@puce.edu.ec

Esta propuesta ha sido revisada y aprobada por el Comité de Ética de la Investigación en Seres Humanos-PUCE. Si usted desea averiguar más sobre este comité, contáctese con el Dr. Hugo Guillermo Navarrete Zambrano - secretario del Comité de Ética de la Investigación en Seres Humanos, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Av. 12 de octubre 1076 y Ramón Roca, Quito. Edificio Administrativo, piso 3, oficina 327. Teléfono: 2991700 – Ext. 2917.

PARTE II: FIRMA CONSENTIMIENTO INFORMADO DE ADULTOS PARTICIPANTES

Yo _____, declaro que he leído con exactitud o me ha sido leída toda la información sobre el estudio y he comprendido que durante el procedimiento se me proporcionará una encuesta y que las investigadoras no intervendrán para realizarme otro pinchazo para recolección de muestra, solo se utilizará una cantidad mínima de la que yo proporcione en el proceso de la donación.

Estoy de acuerdo que durante el tiempo comprendido para la donación, las investigadoras recolectarán mi información necesaria para su estudio. También estoy consciente que mi participación es libre y voluntaria, de la misma manera en caso de retirarme lo puedo hacer cuando yo lo desee.

Se me recalcó que la información que yo proporcione en la encuesta será exclusivamente utilizada para este estudio, mi muestra no será almacenada y tendrá un código exclusivo para custodiar mi confidencialidad. Se me informó que al yo participar en el estudio, no tendré ningún beneficio directo ni inmediato, pero ayudaré en un futuro a disminuir el riesgo de reacciones adversas (destrucción de glóbulos rojos) por plaquetas con títulos anti-A y anti-B elevados.

Los riesgos o molestias que presentaré son propias de la donación de sangre (fiebre, reacciones alérgicas, escalofríos, etc.) y no serán causadas por la participación en el

estudio. Me siento conforme al no recibir una recompensa por la participación en este estudio.

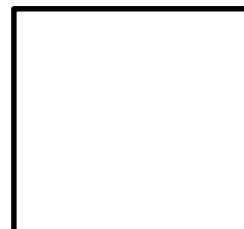
Además, de que he hecho todas las preguntas y me han sido respondido todas las inquietudes, estoy de acuerdo en participar en el estudio.

Firma o huella del donante

Nombre:

C.I.

Fecha:

A large, empty square box with a black border, intended for a signature or stamp.






Firma del investigador

Anexo 3: Cuestionario




Número de código		
Cuestionario de “Presencia de hemolisinas anti-A y anti-B en CPQ de donantes de sangre de grupo “O” del Banco de Sangre del HCAM en el año 2019”		
Muchas gracias por su participación en este estudio, el tiempo aproximado que le tomará contestar este cuestionario no es más de 3 minutos. Sus respuestas serán totalmente confidenciales.		
1. Género de la persona Mujer <input type="checkbox"/> Varón <input type="checkbox"/>	2. Edad de la persona Edad _____ (años cumplidos)	
Si la respuesta a la pregunta 1 es varón, continúe a la pregunta 5		
3. ¿Ha tenido embarazos a término? SI _____ NO _____ ¿Cuántos?		
4. ¿Ha tenido algún aborto? SI _____ NO _____ ¿Cuántos?		
5. ¿Ha recibido alguna transfusión sanguínea? SI _____ NO _____ ¿Cuántas? ¿Cuándo?..... ¿Qué tipo de componente sanguíneo recibió? (Glóbulos rojos y/o plaquetas)		
6. ¿Ha consumido yogurt (probióticos)? SI _____ NO _____		
7. Si su respuesta a la anterior pregunta fue SI, con qué frecuencia lo consume? Diariamente <input type="checkbox"/> De 1 a 2 veces por semana <input type="checkbox"/> De 3 a 4 veces por semana <input type="checkbox"/>		

Anexo 4: Certificado de calibración de pipetas

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN No: CC-1330-016-18

		 Servicio de Acreditación Ecuatoriano Acreditación N° OAE LC C 10-009 LABORATORIO DE CALIBRACIÓN				 Calibration Laboratory Cert No 4286 01																					
IDENTIFICACIÓN DEL CLIENTE																											
EMPRESA:		PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DEL ECUADOR																									
DIRECCION:		AV 12 DE OCTUBRE 1076 Y ROCA																									
TELEFONO:		2991700																									
IDENTIFICACIÓN DEL EQUIPO																											
EQUIPO:		PIPETA PISTON		CÓDIGO ASIGNADO:		NO ESPECIFICA																					
MARCA:		LABNET		RESOLUCIÓN / SUBDIVISIONES:		0,2																					
MODELO / TIPO:		TIPO A		UNIDAD DE MEDIDA:		µl																					
SERIE:		144050542		CAPACIDAD / RANGO:		(20 a 200) µl																					
CÓDIGO:		UIO-RBS-LAB-P-001		UBICACIÓN:		NO ESPECIFICA																					
PATRONES UTILIZADOS																											
CODIGO	NOMBRE	MARCA	MODELO	SERIE	FECHA CAL.	PROX. CAL																					
EL.ET.121	BALANZA ANALITICA	SARTORIUS	SECURA 225D-1S	0034004249	04-oct.-17	04-oct.-18																					
EL.PT.585	TERMOMETRO DIGITAL	ATM	ST9215	NO ESPECIFICA	04-jul.-17	04-jul.-18																					
EL.PT.466	BARÓMETRO DIGITAL	CONTROL COMPANY	1081	150322677	27-oct.-17	27-oct.-18																					
EL.PT.710	TERMOHIGROMETRO	CENTER	342	170500256	23-mar.-18	23-mar.-19																					
CALIBRACIÓN																											
MÉTODO:		GRAVIMÉTRICO																									
PROCEDIMIENTO:		PEC.EL.25																									
LUGAR DE CALIBRACIÓN:		LAB. DE MASA Y VOLUMEN (ELICROM)																									
TEMPERATURA AMBIENTAL MEDIA (°C):		24,4																									
HUMEDAD RELATIVA MEDIA (%HR):		49,4																									
PRESIÓN ATMOSFÉRICA MEDIA (hPa):		1010																									
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Set Point</th> <th>Lectura</th> <th>Error</th> <th>Incertidumbre</th> </tr> <tr> <th>µl</th> <th>µl</th> <th>µl</th> <th>µl</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>20</td> <td>19,894</td> <td>-0,106</td> <td>0,42</td> </tr> <tr> <td>100</td> <td>100,019</td> <td>0,019</td> <td>0,42</td> </tr> <tr> <td>200</td> <td>199,869</td> <td>-0,131</td> <td>0,50</td> </tr> </tbody> </table>				Set Point	Lectura	Error	Incertidumbre	µl	µl	µl	µl	20	19,894	-0,106	0,42	100	100,019	0,019	0,42	200	199,869	-0,131	0,50				
Set Point	Lectura	Error	Incertidumbre																								
µl	µl	µl	µl																								
20	19,894	-0,106	0,42																								
100	100,019	0,019	0,42																								
200	199,869	-0,131	0,50																								
Temp. de Referencia (°C) 20,0				Nota: Promedio de 10 mediciones por cada punto																							
OBSERVACIONES																											
<p>El cálculo de la incertidumbre expandida se realizó en base a la guía OAE G02 R01, multiplicando la incertidumbre típica por el factor de cobertura $k=2,00$, que para una distribución t (de Student) con $V_{eff} = \infty$ (grados efectivos de libertad) corresponde a una probabilidad de cobertura de aproximadamente el 95,45%. La incertidumbre típica de medición se ha determinado conforme al documento EA-4/02. Este certificado no podrá reproducirse excepto en su totalidad sin la aprobación escrita del laboratorio Elicrom Calibración. El presente certificado se refiere solamente al equipo arriba descrito al momento del ensayo.</p>																											
CALIBRACIÓN REALIZADA POR:		Rocio Cabrera																									
FECHA CALIBRACIÓN		2018-05-08																									
		AUTORIZADO POR: Ing. Sabino Pineda GERENTE TECNICO			RECIBIDO POR: RESPONSABLE - CLIENTE																						

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN No: CC-1975-001-19

		 Servicio de Acreditación Ecuatoriano Acreditación N° SAE LC 10-009 LABORATORIO DE CALIBRACIÓN	 ILAC-MRA ACCREDITED Calibration Laboratory Cert. No. 4255 01			
IDENTIFICACIÓN DEL CLIENTE						
NOMBRE:	PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DEL ECUADOR					
DIRECCIÓN:	AV 12 DE OCTUBRE 1076 Y ROCA					
TELÉFONO:	2991700					
PERSONA(S) DE CONTACTO:	CAROLINA CRESPO					
IDENTIFICACIÓN DEL EQUIPO						
INSTRUMENTO:	PIPETA DE PISTON	CÓDIGO:	UIC-RBS-LAB-P-001			
MARCA:	LABNET	UNIDAD DE MEDIDA:	µl			
MODELO:	NO ESPECIFICA	RESOLUCIÓN:	0,2			
TIPO:	A	INTERVALO DE MEDIDA:	(20 a 200) µl			
SERIE:	144050542	UBICACIÓN:	NO ESPECIFICA			
EQUIPAMIENTO UTILIZADO						
CÓDIGO	NOMBRE	MARCA	MODELO	SERIE	FECHA CAL.	VENCE CAL.
EL.ET.063	BALANZA ANALÍTICA	SARTORIUS	CPA 225D	28811977	2019-06-07	2020-06-07
EL.PT.035	TERMÓMETRO DIGITAL	ATM	ST9215	NO ESPECIFICA	2018-07-13	2019-07-13
EL.PT.466	BARÓMETRO DIGITAL	CONTROL COMPANY	1081	150322677	2018 09-15	2019-09-15
EL.PT.771	TERMOHIGRÓMETRO	JUMO	LOGOSCREEN 600	4776450	2018-07-05	2019-07-05
CALIBRACIÓN						
MÉTODO:	GRAVIMÉTRICO					
DOCUMENTO DE REFERENCIA:	ISO 8655-6:2002					
PROCEDIMIENTO:	PEC.EL.25					
LUGAR DE CALIBRACIÓN:	LABORATORIO DE MASA Y VOLUMEN (ELICROM)					
TEMPERATURA AMBIENTAL MEDIA:	23,6 °C	±0,3 °C				
HUMEDAD RELATIVA MEDIA:	46,6 %HR	±2,7 %HR				
PRESIÓN ATMOSFÉRICA MEDIA:	1012 hPa	±0 hPa				
RESULTADOS DE LA CALIBRACIÓN						
Nominal	Resultado	Error	Incertidumbre	Factor de Cobertura (k)	Temperatura °C	Cumplimiento
µl	µl	µl	µl			
200	200,10	0,10	0,27	2,00	24,4	N/A
100	99,83	-0,17	0,29	2,01	24,4	N/A
20	19,75	-0,25	0,28	2,00	24,4	N/A
Temperatura de Referencia (°C): 20,0				Nota: Promedio de 10 mediciones por cada punto		
OBSERVACIONES						
La estimación de la incertidumbre expandida se realizó con base en el documento JCGM 100:2008 (GUM 1995 with minor corrections) "Evaluation of measurement data - Guide to the expression of uncertainty in measurement", multiplicando la incertidumbre típica combinada por el factor de cobertura k, que para una distribución t (de Student) corresponde a una probabilidad de cobertura de aproximadamente el 95,45%. Este certificado no podrá reproducirse excepto en su totalidad sin la aprobación escrita del laboratorio Elicrom-Calibración. Los resultados contenidos en este certificado son válidos únicamente para el instrumento aquí descrito, en el momento y bajo las condiciones en que se realizó la calibración. La temperatura reportada se refiere a la temperatura del líquido de referencia que se empleó durante la calibración. Los resultados han sido corregidos de acuerdo a la temperatura de referencia indicada (20°C).						
CALIBRACIÓN REALIZADA POR:	Ronald Arias			FECHA DE EMISIÓN:	2019-06-18	
FECHA DE RECEPCIÓN DEL ÍTEM:	2019-06-17			FECHA DE CALIBRACIÓN:	2019-06-17	



Autenticación de certificado

Autorizado y firmado electrónicamente por:

Gerente técnico - Autorización EC220319SP



Sustento legal de firma electrónica

Anexo 5: Determinación de hemolisinas anti-A y anti-B con células ABO

DiaCell ABO

Español

B109411 02.15

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

A) Principio

- La aglutinación indica la presencia de anticuerpos.
- La hemólisis también indica la presencia de anticuerpos (ver observaciones 3).
- La inexistencia de aglutinación (o hemólisis) indica la ausencia de anticuerpos ABO.

B) Reacción con DiaCell ABO

A ₁	A ₂	B	O	Isoaglutininas	Grupo sanguíneo
-	-	+	-	Anti-B	A
+	+	-	-	Anti-A	B
-	-	-	-	ninguna	AB
+	+	+	-	Anti-A y Anti-B	O

Nota: Los resultados de la determinación del grupo mediante prueba inversa o grupo sérico deben coincidir con los obtenidos en la determinación directa o grupo hemático. En caso de aparecer discrepancias debe realizarse un estudio adicional, preferiblemente con una nueva muestra.

OBSERVACIONES

1. La temperatura de reacción óptima para las isoaglutininas es de 4 °C. Si se observan reacciones débiles o dudosas con el procedimiento de análisis normal, repita la prueba incubando a 2-8 °C durante 15 minutos.
2. Las reacciones atípicas requieren estudios ulteriores.
3. Si la muestra no está hemolizada, pero se observa hemólisis después de testarla, se recomienda repetir la determinación con suero inactivado (incubación durante 10 minutos a 56 °C). La hemólisis de los eritrocitos A y B puede indicar la presencia de niveles elevados de isoaglutininas y de anti-A y anti-B inmunes. Estos anticuerpos inmunes pueden provocar enfermedad hemolítica del recién nacido por incompatibilidad ABO.
4. En general, en recién nacidos y lactantes no son detectables isoanticuerpos anti-A y anti-B. Los ancianos y pacientes con agammaglobulinemia pueden carecer también de estos isoanticuerpos.

LIMITACIONES

- a) La contaminación de los materiales empleados, bacteriana o de otro tipo, puede provocar falsos positivos o falsos negativos.
- b) Es esencial atenderse estrictamente a los procedimientos y equipos recomendados. El equipo debe comprobarse periódicamente según la normativa de prácticas de laboratorio correctas (GLP).

BIBLIOGRAFÍA

1. Technical Manual of the American Association of Blood Banks, 13th edition, 1999.
2. Human Blood Groups, second edition, Geoff Daniels, Blackwell Science LTD, 2002.

PRODUCTOS

DiaCell ABO A ₁ , A ₂ , B, O (Id-nº: 45061)	Juego de 4 frascos	4 x 10 ml	REF 109414
DiaCell ABO A ₁ , B (Id-nº: 45101)	Juego de 2 frascos	2 x 10 ml	REF 109416
DiaCell ABO A ₁ (Id-nº: 16011)		1 x 10 ml	REF 109410
DiaCell ABO A ₂ (Id-nº: 16021)		1 x 10 ml	REF 109411
DiaCell ABO B (Id-nº: 16031)		1 x 10 ml	REF 109412
DiaCell ABO O (Id-nº: 16041)		1 x 10 ml	REF 109413

Se garantiza que estos productos se comportarán según lo descrito en la etiqueta y en la hoja de instrucciones. El fabricante declina toda responsabilidad en caso de que los productos se utilicen o vendan para cualquier otro uso diferente de los allí descritos.

Cambios en la versión 10.13 están sombreadas en gris.

 DiaMed GmbH
Pra Rond 23
1785 Cressier FR
Suiza


0123

 BIO-RAD

Anexo 6: Carta de interés del Banco de Sangre del HCAM



INSTITUTO ECUATORIANO DE SEGURIDAD SOCIAL
HOSPITAL "CARLOS ANDRADE MARIN"

0033- 2018

Quito, D.M., 25 de septiembre de 2018

Máster
Rosita Chiriboga
DOCENTE DE LA CARRERA DE BIOQUÍMICA CLÍNICA
DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN
Presente:

De mi consideración:

Por medio de la presente autorizo a las estudiantes: Srta. Sandy Jácome y Melba López a realizar el estudio denominado "Presencia de hemolisinas anti-A y anti-B en concentrados de plaquetas obtenidas de donantes de sangre de grupo sanguíneo O en el Banco de Sangre del Hospital de Especialidades Carlos Andrade Marín en el año 2019".

Este estudio proporcionará datos de interés para el Banco de Sangre los mismos que deberán ser entregados y socializados a la dirección del Banco de Sangre. En caso de publicación se tomará en consideración al personal y a la institución participe en el estudio.

Para iniciar el trabajo deberán presentar el documento del CEISH-PUCE aprobando el estudio

Atentamente,

Dr. Mauricio Heredia F.
ESPECIALISTA EN HEMATOLOGÍA
Y HEMOTERAPIA
COD MED: 060303035-4

Dr. Mauricio Heredia
JEFE DE LA UNIDAD DE BANCO DE SANGRE
HOSPITAL ESPECIALIDADES CARLOS ANDRADE MARÍN

Av. 18 de Septiembre S/N y Ayacucho Teléf. 2944200/300
Quito - Ecuador

**Renovar para actuar,
actuar para servir**

Anexo 7: Aprobación del Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos-PUCE y HCAM.

Pontificia Universidad
Católica del Ecuador

Comité de Ética de la Investigación en Seres Humanos



Quito, 20 de febrero de 2019
Oficio-CEISH-673-2019

Señoritas estudiantes

Melba Noemí López Molina

Sandy Carolina Jácome Mancheno

Carrera de Bioquímica Clínica de la Facultad de Medicina de la PUCE

Presente.

Estimadas señoritas:

El Comité de Ética de la Investigación en Seres Humanos de la PUCE, en la sesión del 14.02.2019, estudió el proyecto: **Presencia de hemolisinas anti-A y anti-B en concentrados de plaquetas obtenidas de donantes de sangre de grupo sanguíneo O en el banco de sangre del Hospital Carlos Andrade Marín en el año 2019.** Código 2018-19-MB.

Este proyecto fue aprobado inicialmente por el Comité en la sesión del 22.11.2018, oficio CEISH-633-2018.

El Ministerio de Salud Pública solicitó que el CEISH-PUCE aprobara la corrección de ciertos cambios realizados en el estudio, por esta razón, el Comité de Ética de la Investigación en Seres Humanos de la PUCE **APRUEBA DEFINITIVAMENTE** el proyecto en la sesión del 14.02.2019, por el tiempo estimado de duración que es de 8 meses.

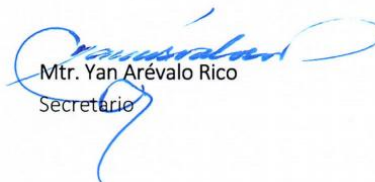
Igualmente, con el fin de dar seguimiento, se solicita:

- Presentar la carta de aprobación de la Dirección Nacional de Inteligencia de la Salud.
- Comunicar por escrito al CEISH-PUCE el momento del inicio de la investigación.
- Entregar informe parcial y final cuando sea solicitado por el CEISH-PUCE.

Con nuestra consideración y estima,


Dra. Laura Arcos Terán

Presidente


Mtr. Yan Arévalo Rico
Secretario

LAT/yar

Av. 12 de octubre 1076 y Ramón Roca
Apartado postal 17-01-2184
Telf.: (593) 2 299 17 00 ext. 2917
Quito – Ecuador



Certificado Nro. IESS-HCAM-CEISH-2019-1052-DF

Quito, D.M., 01 de octubre de 2019

CERTIFICADO

Por medio del presente, me permito conferir el Certificado a favor de Dra. Melba Noemí López Molina, C.C: 1313064378; y, Dra. Sandy Carolina Jácome Mancheno, C.C.: 1715452775, las mismas que presentaron el protocolo de investigación titulado: *"Presencia de hemolisinas anti-A y anti-B en concentrados de plaquetas obtenidas de donantes de sangre de grupo sanguíneo O en el Banco de Sangre del Hospital Carlos Andrade Marín en el año 2019"*, el cual se encuentra debidamente aprobado por el Área de Emergencias, en conocimiento en Acta N°004 de 18 de abril de 2019 y aprobación en Acta N°010 del Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos llevada a cabo el 19 de Septiembre de 2019.

Atentamente,



Dra. Gloria del Rocío Arbeláez Rodríguez
PRESIDENTA CEISH - HCAM

Natalia Jacqueline Sosa Mendieta
SECRETARÍA CEISH - HCAM

PD: El Hospital de Especialidades Carlos Andrade Marín tiene derechos de propiedad intelectual sobre las investigaciones realizadas con sus pacientes. Al finalizar la investigación, los autores deberán entregar su artículo científico realizado bajo las normas para publicación en la Revista Médica-Científica CAMBIOS HCAM, Acorde al "Registro Oficial N°279-0004889 Reglamento para la Aprobación y Seguimiento de los Comités de Ética Asistenciales para la Salud (CEAS). ASPECTOS JURÍDICOS. LITERAL J) Revocar la aprobación de la investigación cuando se incumplan los procedimientos establecidos. En este caso el CEISH deberá comunicar a los investigadores responsables, a las instituciones". (...)

Anexo 8: Aprobación de la investigación por parte de la Dirección Nacional de Inteligencia de la Salud – DNIS del Ministerio de Salud Pública

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA



Coordinación General de Desarrollo Estratégico en Salud
Dirección Nacional de Inteligencia de la Salud

Oficio Nro. MSP-DIS-2019-0129-O

Quito, D.M., 08 de abril de 2019

Asunto: RESPUESTA AL PROTOCOLO OBSERVACIONAL MSPCURI000290-3: "Presencia de hemolisinas anti- A y anti-B en concentrados de plaquetas obtenidas en donantes de sangre de grupo sanguíneo O en el banco de sangre del Hospital Carlos Andrade Marín"

Señora
Sandy Carolina Jácome Mancheno
En su Despacho

De mi consideración:

En respuesta al oficio Nro. MSP-DNGA-SG-10-2019-2706-E, en el que Melva López Molina y Sandy Jácome Mancheno investigadoras principales; remiten el protocolo del estudio observacional denominado: *“Presencia de hemolisinas anti- A y anti-B en concentrados de plaquetas obtenidas en donantes de sangre de grupo sanguíneo O en el banco de sangre del Hospital Carlos Andrade Marín”*, codificado por la Dirección Nacional de Inteligencia de la Salud (DIS) MSPCURI0002290-3; Una vez subsanadas las observaciones emitidas mediante informe técnico, en el oficio Nro. MSP-dis-2019-0032-O; cumplidos los requisitos mínimos para la evaluación del mismo, y contando además con el criterio favorable del Programa Nacional de Sangre, se **APRUEBA** la versión adjunta del protocolo.

Le recordamos que una vez finalizada la investigación, es responsabilidad del investigador principal enviar a esta Dirección y al Programa Nacional de Sangre los resultados; así como, las publicaciones que se realicen como producto de este estudio.

La Dirección Nacional de Inteligencia en Salud aprueba los protocolos de los estudios observacionales en el ámbito de sus competencias, en base a una revisión de calidad metodológica y ética de los estudios. Sin embargo, el contenido, la autoría y la responsabilidad sobre los resultados del estudio corresponden al Patrocinador y al Investigador Principal, exonerando al Ministerio de Salud Pública de cualquier acción legal que se derive por esta causa.

El presente estudio se desarrollará en el establecimiento de salud que fue proporcionado por el investigador principal.

Es importante recalcar que de acuerdo a lo indicado en el protocolo de la investigación aprobada los rubros serán asumidos en su totalidad por las investigadoras del proyecto.

Cabe mencionar que si bien los resultados podrían contribuir a la salud pública, éstos no son de carácter vinculante para esta Cartera de Estado.

Anexo 9: Desecho de material biológico

Art. 54.- El tratamiento externo de desechos infecciosos, se realizará conforme la Norma Técnica que se expedirá para la aplicación del presente Reglamento y Normativa Ambiental aplicable.

Los métodos aplicarse de acuerdo al tipo de desecho sanitario peligroso serán, entre otros, los siguientes:

- a) Desactivación mediante autoclave por calor húmedo: Este método es adecuado para la desactivación de cultivos de agentes infecciosos, corto-punzantes, material e insumos que han estado en contacto con fluidos corporales y de inoculación de microorganismos.
- b) Desactivación por calor seco: Este tipo de tecnología es adecuada para desechos corto-punzantes, materiales e insumos que han estado en contacto con fluidos corporales.
- c) Desactivación por radiación: Este método se utilizará con desechos corto-punzantes, cultivos y cepas.
- d) Desactivación por microondas: Este método es aplicable para materiales e insumos que han estado en contacto con fluidos corporales y cultivos.
- e) Desactivación mediante el uso de gases: Este método es utilizado con desechos corto-punzantes, material e insumos que han estado en contacto con fluidos corporales.
- f) Desactivación mediante equipos de arco voltaico: Este método es utilizado únicamente con desechos corto-punzantes.
- g) Desactivación por incandescencia: Esta tecnología se utilizará únicamente para los desechos corto-punzantes.
- h) Incineración: Este método es utilizado para desechos anátomo-patológicos y cadáveres de animales, la aplicación de la incineración está sujeta al informe médico o declaración técnica de acuerdo a la legislación sanitaria aplicable; la incineración deberá contar con el respectivo Permiso Ambiental. Las cenizas producto del proceso de incineración deben ser dispuestas en un relleno de seguridad autorizado por la Autoridad Ambiental competente.

Anexo 10: Proceso de Estudio

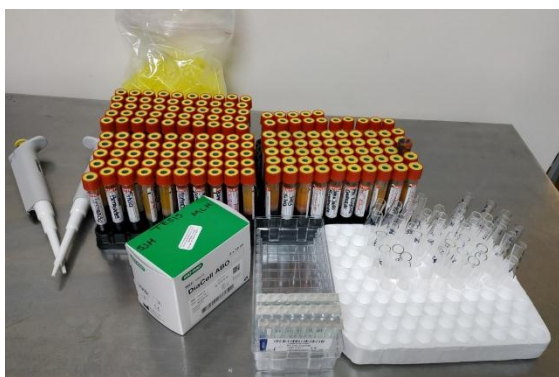
- Campaña de Donación Banco Central



- Encuesta a los donantes

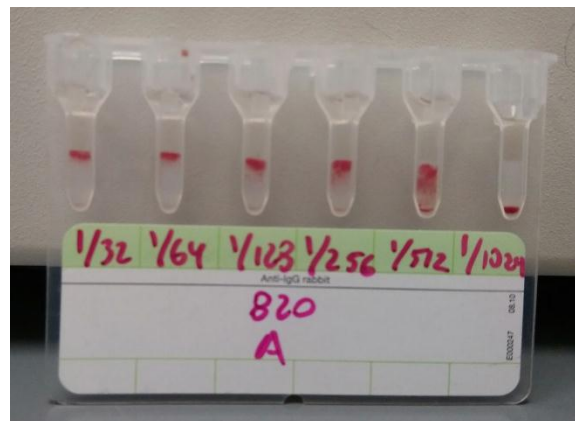
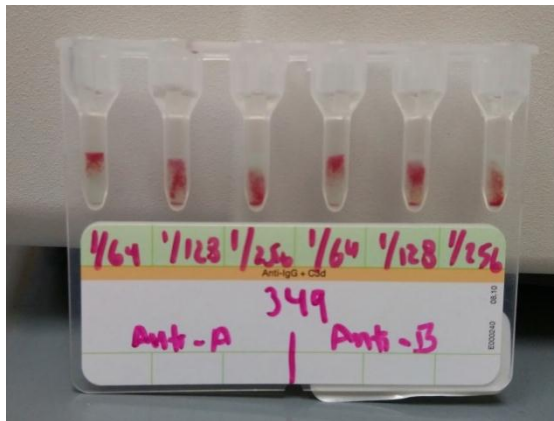


- Procesamiento de muestras:

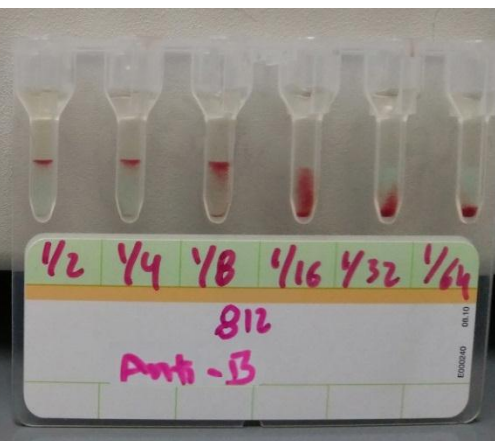
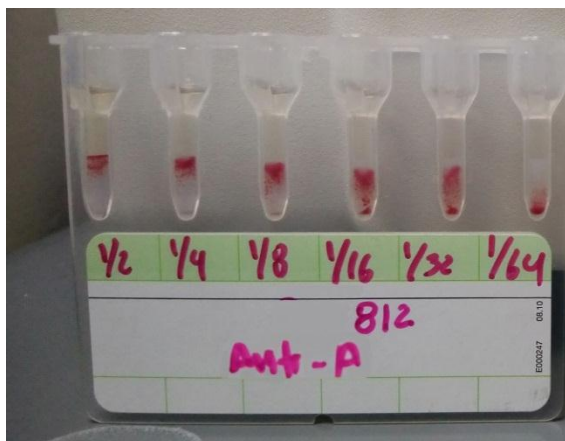




- Títulos nocivos de hemolisinas anti-A y anti-B IgG



- Títulos de hemolisinas anti-A y anti-B IgM



- Proceso de plaquetoféresis

