

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR**  
**ESCUELA DE BIOANÁLISIS**  
**DISERTACIÓN PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE**  
**LICENCIADO EN BIOANÁLISIS CLÍNICO**

**DETERMINACIÓN DE LA FRECUENCIA DE ALOANTICUERPOS**  
**EN PACIENTES HEMATOLÓGICOS MULTITRANSFUNDIDOS QUE**  
**ACUDEN A DOS CENTROS DE SALUD EN QUITO, EN EL AÑO**  
**2012.**

**JOSÉ ALEJANDRO CHECA TORRES**

**DIRECTORA: MST. ROSA CHIRIBOGA**

**QUITO, Octubre del 2013**

## DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, José Alejandro Checa Torres, CI 1720498581 , autor del trabajo de graduación titulado “DETERMINACIÓN DE LA FRECUENCIA DE ALOANTICUERPOS EN PACIENTES HEMATOLÓGICOS MULTITRANSFUNDIDOS QUE ACUDEN A DOS CENTROS DE SALUD EN QUITO, EN EL AÑO 2012”, previa a la obtención de grado académico de LICENCIADO EN BIOANÁLISIS CLÍNICO en la Escuela de Bioanálisis.

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 SENECYT en forma 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 del sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo y graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de la Universidad.

Quito

José Alejandro Checa Torres

CI: 1720498581

## DEDICATORIA

El presente trabajo está dedicado a Dios por darme la vida, salud, energía y sabiduría para poder reportar resultados clínicamente útiles y permitir estar en este momento tan especial de mi vida profesional, compartiendo con todos mis allegados.

A mi madre por motivarme siempre con sus consejos, ánimos, motivaciones, vitaminas, abrazos y bendiciones las cuales siempre me han acompañado en transcurso de mi vida estudiantil y profesional; enseñándome a ser una mejor persona cada día con sus correcciones y enseñanzas.

A mi padre por ser la imagen de hombre, amigo y padre que gracias a sus consejos y charlas me siento en capacidad de desenvolverme en la vida, siendo un pilar importante para seguir con esta profesión.

A mi familia por darme siempre una estabilidad emocional y ser mi fuente de apoyo día a día.

A mi futura esposa Catherine Gallegos que ha sido mi compañera y motivación en la realización del presente trabajo.

A mi directora de tesis Rosita Chiriboga por sus enseñanzas, amistad y confianza en mí para desarrollar el presente trabajo.

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero agradecer a Dios por estar conmigo todos los días, a mis padres por su apoyo incondicional demostrándome su sencillez, amistad y esfuerzo para cumplir metas; Dios le pague Papitos por formar la familia que tengo gracias por sus consejos, momentos compartidos, por todas las enseñanzas, por sus cuidados, por la comprensión, por sus mimos y correcciones, por sus abrazos los cuales se ven reflejados en este momento tan importante para nosotros, sin duda me sobran las palabras para describir el agradecimiento para mi Pepullito y mi Carmita les quiero de corazón viejos, mis hermanos Juan Carlos, Verónica, Santiago, Daniel y Juan Pablo.

Total agradecimiento a mi Directora de Tesis Rosita Chiriboga por ser mi consejera profesional y especialmente por ser mi amiga incondicional, muchísimas gracias por hacerme ver la vida del laboratorio desde otro punto de vista, palpando la realidad de sociedad en el viaje a Loja, demostrándome que es mejor ser humano que ser profesional. Gracias por las palabras “Realice los exámenes como si fueran de sus familia” siempre las llevare en mente en mi vida profesional.

Agradezco a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, a la Escuela de Bioanálisis y especialmente a mis profesores que han sido un pilar fundamental para la formación profesional y personal de todos los estudiantes.

Un agradecimiento especial a mi novia Catherine Gallegos gracias por confiar en mí y demostrarme tu amistad y tu amor TE AMO.

A las instituciones que me permitieron realizar mi estudio muchas gracias Cruz Vital y Hospital Baca Ortiz y a los doctores y licenciados que me dieron su apoyo Dr. Francisco Cevallos, Dr. Juan Sghirla, Dr. Patricio Yáñez, Lic. Eugenia Villacís.

Un agradecimiento a mis “panas” y colegas que compartieron conmigo este transcurso de la Universidad a mi hermano Álvaro Ruano inolvidable esas aventuras que las compartimos con mis panas Andrés, Adrián, Francho, Fabricio, Gabo, Christian a mis amigas Diana, Gaby, Anabel, Daya, Soffy, Dana, Kary y Cathe sin ustedes la vida universitaria no hubiese sido igual.

## **RESUMEN**

### *Determinación de la frecuencia de aloanticuerpos en pacientes multitransfundidos hematológicos que acuden a dos centros de salud en Quito.*

*Introducción:* La medicina transfusional ha alcanzado una gran relevancia como tratamiento terapéutico a nivel de pacientes con patología hematológicas, a pesar de ser un tratamiento seguro y eficaz existen riesgos como reacciones postransfusionales debidas a la producción de aloanticuerpos. *Materiales y Métodos:* El presente estudio se llevó a cabo en dos centros de salud de la ciudad de Quito, lugares donde se realiza atención médica a los pacientes con patología hematológicas, previa autorización de cada centro y firma de consentimientos informados por parte de los pacientes o sus representantes en caso de ser menores de edades se procedió a la recolección de las muestras y su procesamiento en técnica de gel para el escrutinio de anticuerpos. *Resultados:* Se analizó un total de 371 pacientes, el 58% fueron niños y se identificaron 16 aloanticuerpos, 4 de los pacientes presentaron dos tipos de anticuerpos irregulares a la vez. La aloinmunización tuvo una relación directa con el número de transfusiones realizadas  $p=0,047$ . Dentro de los aloanticuerpos identificados se encontró al anti-Kpa, anticuerpo poco frecuente y relacionado con reacciones pos transfusionales tardías. *Conclusiones y Recomendación:* Existe la presencia de aloanticuerpos eritrocitarios en los pacientes multitransfundidos que se relacionan con el número de transfusiones y el tipo de patología ( $p<0,05$ ) que ocasionan reacciones postransfusionales tardías por lo que se recomienda que a nivel de los servicios de medicina transfusional se realice el escrutinio de anticuerpos irregulares en pacientes multitransfundidos de tal manera que se prevenga nuevas aloinmunizaciones, así también que se establezca la determinación del “fenotipo extensivo” de las unidades sanguíneas donadas, lo que facilitará encontrar sangres fenotípicamente compatibles con los receptores que requieren ser transfundidos de forma rutinaria como parte de su tratamiento.

Palabras Claves: Hematológicos, Multitransfundidos, Aloinmunización, Aloanticuerpos.

## **ABSTRACT**

*Determination of the frequency of alloantibodies on multitransfusionals hematologist patients whom assist two health centers in Quito.*

*Introduction:* Transfusional medicine has searched a great relevance as therapeutic treatment on patients with pathology hematologist although it is a safe and effective treatment exist some risks as postransfusionales reactions that occurs in the alloantibodies production. *Materials and methods:* This study was carrying on two health centers in Quito, places where are assisted patients with hematologist pathology, previous authorization of each health center and signature of patients informed with their own consent or their legal representative on those that being under 18 years old. It was recollected some samples which were processed on gel technique for antibodies screening.

*Results:* It was analyzed about 371 patients, 58% were children and were identified 16 types of alloantibodies, 4 patients showed two types of antibodies at the same time. The alloimmunization had a direct relation with the transfusions number performed  $p=0,047$ . Among the identified alloantibodies was found anti anti-Kp<sup>a</sup>, antibody that is less frequent and related with delayed post transfusion reactions.

*Conclusions and Recommendations:* There is the presence of RBC alloantibodies on multitransfused patients that are related with the transfusions number and the pathology type ( $p<0,05$ ) that causes post transfusion delayed post transfusions reactions, for this reason it is recommended that at level of the services of transfusional medicine has performed the antibodies screening on multitransfundidos patients in such manner that it prevents the production of new alloimmunizations. At the same time, it was established the determination of the extended phenotype of the blood units given, it facilitated to find phenotypically compatible blood with the receptors that requirements being transfused in a routine way as a part of their treatment.

Keywords: Hematologycs, Multitransfunded, Alloimmunization, Alloantibodies.

## TABLA DE CONTENIDO

LISTA DE TABLAS .....	4
LISTAS DE FIGURAS .....	5
LISTA DE ANEXOS .....	6
LISTA DE SIGLAS .....	7
INTRODUCCIÓN.....	8
CAPITULO I.....	10
1. JUSTIFICACIÓN.....	10
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	12
3. OBJETIVOS:.....	14
3.1. OBJETIVO GENERAL:.....	14
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:.....	14
4. HIPÓTESIS:.....	14
CAPITULO II.....	15
MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL.....	15
5. ANTECEDENTES .....	15
6. MEDICINA TRANSFUSIONAL.....	18
7. LEGISLACIÓN Y MEDICINA TRANSFUSIONAL.....	19
8. TRANSFUSIÓN SANGUÍNEA COMO TRATAMIENTO TERAPEÚTICO .....	21
9. TRANSFUSIÓN DE COMPONENTES SANGUÍNEOS .....	22
9.1. Tipos de patología que cursan con anemia: anemia aguda .....	24
9.2. Anemia crónica .....	24
9.3. Anemia hemolítica autoinmune: .....	25
9.4. Anemia en pacientes pediátricos:.....	25
9.5. Anemia y drepanocitosis .....	26

9.6. Síndrome de Evans.....	26
10. ALOINMUNIZACIÓN .....	27
10.1. Principales grupos sanguíneos eritrocitarios: .....	29
11. REACCIONES POSTRANSFUSIONALES .....	30
12. PRUEBAS PRETRANSFUSIONALES.....	30
12.1 Fundamento de las pruebas.....	31
12.2 Proceso de las pruebas pretransfusionales.....	32
12.3 Pruebas serológicas .....	33
CAPITULO III .....	38
MARCO METODOLÓGICO .....	38
13. MATERIALES Y MÉTODOS.....	38
13.1 Tipo de estudio .....	38
13.2 Tipo de muestreo .....	38
13.3 Tamaño de muestra.....	38
13.4 Consentimiento informado: .....	39
13.5 Operacionalización de las variables .....	39
13.6 Control de calidad.....	41
13.7 Procedimiento de elección de muestras.....	41
13.8 Pruebas en gel.....	41
CAPITULO IV .....	45
14. MARCO CONCEPTUAL .....	45
CAPITULO V .....	48
15. RESULTADOS. ....	48
15.1 Control de calidad.....	57
16. CONCLUSIONES:.....	58

17.	RECOMENDACIONES:.....	58
18.	DISCUSIÓN .....	59
19.	ANEXOS .....	63
20.	BIBLIOGRAFÍA .....	71

## LISTA DE TABLAS

- Tabla 1:** Antígenos y anticuerpos de grupos y subgrupos del sistema ABO.
- Tabla 2:** Ejemplo de células utilizadas en la determinación de aloanticuerpos.
- Tabla 3:** Ejemplo de células “panel”.
- Tabla 4:** Descripción de antisueros.
- Tabla 5:** Población analizada.
- Tabla 5.1:** Distribución de la población de acuerdo a la edad.
- Tabla 5.2:** Presencia de aloanticuerpos de acuerdo a la edad.
- Tabla 5.3:** Relación entre anticuerpos y número de transfusiones.
- Tabla 5.4:** Análisis del Chi-cuadrado.
- Tabla 5.5:** Identificación de anticuerpos irregulares.
- Tabla 5.6:** Número de transfusiones de acuerdo al diagnóstico.
- Tabla 5.7:** Presencia de aloanticuerpos de acuerdo al diagnóstico.
- Tabla 5.8:** Presencia de doble aloanticuerpos de acuerdo a la patología, número de transfusiones y edad.
- Tabla 5.9:** Resultados de control de calidad

## LISTAS DE FIGURAS

**Figura 5.1:** Total de población analizada en el estudio.

**Figura 5.2:** Frecuencia de pacientes por edad.

**Figura 5.3:** Principales patologías.

## LISTA DE ANEXOS

- Anexo 1:** Consentimiento informado.
- Anexo 2:** Hoja de lectura de pruebas.
- Anexo 3:** Insertos de reactivos comerciales: anti-sueros anti-A; anti-B; anti-AB y anti-D.
- Anexo 4:** Proceso de toma de muestra, tipificación y fenotipos Rh.
- Anexo 5:** Técnica de elución.
- Anexo 6:** Técnica de control de Coombs.
- Anexo 7:** Proceso de rastreo de anticuerpos.
- Anexo 8:** Lectura automatizada de resultados.

## LISTA DE SIGLAS

- 1.- **OPS:** Organización Panamericana de la Salud
- 2.- **MSP:** Ministerio de Salud Pública
- 3.- **OMS:** Organización Mundial de Salud
- 4.- **CIEI:** Centro de investigación de Enfermedades Infecciosas
- 5.- **AGH:** Antiglobulina humana poliespecífica
- 6.- **LLA:** Leucemia linfoide aguda
- 7.- **LMA:** Leucemia mieloide aguda
- 8.- **TPI:** Trombocitopenia púrpura idiopática
- 9.- **Hb:** Hemoglobina
- 10.- **HIV:** Virus Inmunodeficiencia humana
- 11.- **VHC:** Virus de Hepatitis C

## INTRODUCCIÓN

La medicina transfusional ha logrado grandes avances a través de los tiempos, obteniendo un gran éxito en la mayoría de los procedimientos realizados siempre relacionado a la tecnología del momento y obteniendo como resultado un aumento de la expectativa de vida en los pacientes o receptores de productos sanguíneos. A pesar de estos avances se han ido generando muchas complicaciones que han ocasionado reacciones postransfusionales después de ser administrado el hemoderivado, pudiendo ser estas inmediatas y/o tardías. (Alcaraz López, 2005)

Dichas reacciones son producidas debido a que los hemoderivados contiene eritrocitos con antígenos de superficie que en su mayoría son extraños al receptor, lo cual provoca activación del sistema inmune produciendo una sensibilización y producción de aloanticuerpos contra las células eritrocitarias (Aristizábal Aristizábal & Torres, 2007); al recibir una segunda transfusión se estimula la producción de una mayor cantidad de aloanticuerpos causando la correspondiente destrucción eritrocitaria de las células del donante dentro del receptor, de tal manera que los pacientes que reciben una gran cantidad de derivados sanguíneos tienen un mayor riesgo de generar dichas reacciones. Por lo general la aloinmunización se presenta en un periodo de 24 horas, las cuales deben ser documentadas con rapidez para que el médico tome medidas correctivas, sin embargo existen reacciones que ocurren luego de 24 horas a estas se las considera tardías y poco documentadas (Aristizábal Aristizábal & Torres, 2007).

En Ecuador, hay reglamentos que se encuentran descritos en el Manual de Criterios Técnico-Administrativos del MSP- Ecuador, basándose en los criterios y estándares de Bancos de Sangre de la OMS/OPS, en el que se menciona que se debe realizar “*todas las pruebas transfusionales*” incluyendo el rastreo de anticuerpos irregulares a todos los donantes y receptores antes de ser utilizados los componentes a ser transfundidos (Ministerio de Salud, 2008); sin embargo, a nivel de algunos bancos de sangre no se los realiza, ocasionando retrasos en la entrega de hemoderivados y una alta posibilidad de aloinmunización, una de las causas para que se produzca esto constituye la falta de estudios y publicaciones que mencionen la importancia de la realización del rastreo de anticuerpos para evitar la aloinmunización y la disponibilidad de recursos económicos que les permitan adquirir los

reactivos necesarios (QBP Hernández Velasco Ana Cecilia, 2010). Los pacientes que presentan un mayor riesgo en el desarrollo de aloanticuerpos son los denominados multitransfundidos o que requieren un mayor número de transfusiones sanguíneas que les permite mejorar su condición de salud. Al presentar inmunización la consecuencia es una destrucción más rápida de los eritrocitos que poseen el antígeno complementario.

Las causas que producen una aloinmunización pueden deberse a la conformación genética del receptor, antígenos extraños del donante, diferencia étnica entre receptor y donante y una repetida exposición a antígenos eritrocitarios ajenos. (Aristizábal Aristizábal & Torres, 2007). Este último aspecto es importante debido a que los aloanticuerpos son indetectables a lo largo del tiempo cuando no ha existido un estímulo constante, es decir no ha recibido una transfusión que tenga el antígeno extraño y por lo tanto ocurre una disminución de concentración en el plasma llegando a ser indetectables con las pruebas rutinarias. Los estudios mencionan que la incidencia de aloanticuerpos es entre 1-6% e incluso llegar al 30% en pacientes que han recibido transfusiones sanguíneas de forma frecuente, en este estudio se determinó un 4,3% en pacientes con patologías hematológicas y su presencia está relacionada con el número de transfusiones recibidas.

Así también se encontraron una variedad de aloanticuerpos siendo el más llamativo el anti-Kp<sup>a</sup> que es reportado en la literatura como poco frecuente pero muy relacionado con las reacciones postransfusionales. Otro hallazgo importante fue el aloanticuerpo anti-JK<sup>a</sup> que es el responsable de reacciones hemolíticas tardías y su principal característica es la disminución de sus niveles en el suero y por ende su falta de detección en las pruebas rutinarias denominadas “cruzadas” o “pruebas pretransfusionales. (Aristizábal Aristizábal & Torres, 2007). Estos resultados indican la necesidad de implementar nuevas determinaciones y pruebas a nivel de los servicios de medicina transfusional del país incluyendo el fenotipo extensivo tanto para donantes como receptores.

## CAPITULO I

### 1. JUSTIFICACIÓN

Los pacientes multitransfundidos constituyen uno de los grupos que generan mayores dificultades durante la transfusión de productos sanguíneos debido a la presencia de aloanticuerpos o anticuerpos irregulares producto de transfusiones previas y que ocasionan reacciones postransfusionales (Aristizábal, 2007). Los derivados celulares como paquetes globulares y plaquetas, pueden inducir la formación de anticuerpos, de tal manera que cuando son transfundidos a pacientes sensibilizados por otros contactos previos con hemoderivados desencadenan una reacción postransfusional (Martinez, Fallas, Contreras, & Fonseca, 1997), a este fenómeno es al que se denomina aloinmunización. La frecuencia de aloanticuerpos puede variar desde 0,52% al 34%, e inclusive existe un porcentaje de pacientes que presenta más de un anticuerpo irregular o aloanticuerpo (Schonewille, 2006), así en el estudio realizado en Estados Unidos se reportó la presencia de anticuerpos irregulares como: anti-E en un 20,8%; anti Lewis 18,6%; anti Kell 14%, anti D 12,9%; anti M 7,2%; anti-C 6,8%; anti-P 6,7% y anti Fya 6,3% (Winters, 2001); en otro estudio realizado en Holanda se determinaron como aloanticuerpos frecuentes anti-E; anti-K; anti-c; anti Jk y anti-Fya. (Schonewille, 2006). Estos resultados demuestran la diferencia existente entre países y sus poblaciones por lo que se concluye que cada país debe realizar un estudio que indique el tipo y frecuencia de aloanticuerpo en sus pacientes.

En Ecuador, existen escasas publicaciones y estudios de la frecuencia de anticuerpos irregulares en pacientes hematológicos multitransfundidos. Los estudios han demostrado que el 65% de las personas que reciben transfusiones experimentan reacciones durante o después de suministrado el hemoderivado, considerándose a la reacción febril como la más común debido al desarrollo de anticuerpos por parte del paciente contra los antígenos presentes en leucocitos o linfocitos del donante, con el fin de evitar esto se estableció el uso de productos leucoreducidos. (Álvarez, 1996). Sin embargo, los anticuerpos irregulares se pueden encontrar de manera frecuentemente en las muestras de pacientes que han recibido derivados sanguíneos o han sido expuestos a antígenos hemáticos por períodos largos, de tal manera que las reacciones postransfusionales son inevitables. Algunos de estos anticuerpos tienen importancia

clínica debido a que pueden causar disminución de la supervivencia de los hematíes como resultado de una reacción transfusional hemolítica (Brecher, 2002).

Actualmente en los bancos de sangre del país se realiza una prueba denominada “rastreo de anticuerpos” a todos los donantes de sangre acatando de esta manera los lineamientos del Manual de Criterios Técnicos-Administrativos del MSP- Ecuador, facilitando la elección de derivados sanguíneos, eliminando productos que tienen alta concentración de aloanticuerpos como plasma fresco congelado y/o refrigerado pero se utilizan los concentrados de eritrocitos. Adicionalmente, la detección de anticuerpos irregulares es para evitar las denominadas “transfusiones ineficaces” en las que el paciente recibe una mayor cantidad de paquetes globulares para estabilizarlo, debido a que los eritrocitos del donante son destruidos rápidamente, esto puede deberse a la falta de pruebas de rastreo de anticuerpos que les permita prevenir una aloinmunización, o el escaso conocimiento de todos los datos relevantes del paciente como: transfusiones previas, embarazo y/o abortos (Alcaráz-López ,2007). Al realizar estas pruebas con anterioridad tanto en el donante como en el paciente se mejoraría el proceso de una transfusión.

## **2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.**

La medicina transfusional ha alcanzado una gran relevancia como tratamiento terapéutico, especialmente por la ayuda ofrecida a los pacientes con déficit de sangre debida a pérdida súbita o por procesos patológicos (González, 2007). A pesar de que este tratamiento es seguro existe la presencia de reacciones transfusionales una de ellas constituye la aloinmunización, producida por la exposición a antígenos eritrocitarios durante una transfusión sanguínea. (Gutiérrez & Ochoa, 2010) (González, 2007) (Arias, 2003) Los derivados sanguíneos poseen antígenos de superficie, es decir, sustancias que activan el sistema inmune, lo que induce la producción de anticuerpos durante la respuesta primaria (González, 2007) cuando ocurre un segundo contacto con el antígeno se produce la respuesta inmune secundaria la que desencadena aglutinación, fagocitosis o lisis por el sistema de complemento ocasionando reacciones indeseables en los pacientes multitransfundidos. Es por esta razón que los antígenos sanguíneos de hematíes, plaquetas, y de proteínas séricas tienen importancia en el campo de la inmunohematología por las reacciones postransfusionales que pueden producir especialmente en pacientes que requieren más de dos unidades sanguíneas semanales. (Vásquez, 2002)

Las reacciones transfusionales son efectos adversos que pueden ser inocuos y nocivos (González, 2007), y a su vez se clasifican en inmunológicos y no inmunológicos, inmediatos y tardíos. Para la prevención de estas reacciones es de vital importancia conocer los antecedentes transfusionales del paciente, tipo de tratamiento y todo factor que permita evidenciar la presencia de aloinmunización. (González, 2007) Dentro del protocolo de manejo de reacciones transfusionales propuesto en México se encuentra un ítem relacionado con “los estudios de las muestras del paciente” (Alcaraz López, 2005) que contempla la observación del aspecto del suero del paciente en búsqueda de indicio de hemólisis, repetición de pruebas ABO, Rh, pruebas de compatibilidad e investigación de aloanticuerpos o anticuerpos anti-eritrocitarios causantes de la reacción postransfusional ya sea esta hemolítica o inmune.

Por esta razón, al tratarse de pacientes multitransfundidos se requiere una investigación previa de los aloanticuerpos producidos por el contacto previo con antígenos eritrocitarios durante una transfusión sanguínea alógena (Alcaraz López, 2005). En el estudio realizado por Gutiérrez & Ochoa, 2010 encontraron una prevalencia del 0,52% en pacientes que presentaban problemas hematológicos con historial de transfusiones previas, adicionalmente identificaron más de un anticuerpo irregular en el 16,8% de esta población estudiada. Con estos resultados, enfatizaron la importancia de la determinación de anticuerpos irregulares antes de una transfusión especialmente en pacientes que han recibido más de una transfusión sanguínea y durante varios meses, evitando reacciones transfusionales (Gutiérrez & Ochoa, 2010).

En Ecuador, no existen publicaciones de la frecuencia de aloanticuerpos en pacientes multitransfundidos, únicamente se conoce la imposibilidad de transfundir derivados sanguíneos idóneos a los pacientes que lo requieren, por la positividad en las pruebas de compatibilidad, aseveración dada por el médico tratante durante la entrevista realizada en uno de los centros de salud en el que reciben atención médica y tratamiento (Cevallos, 2012).

Valdés en el año 2001 publica en su artículo titulado “Procedimientos para detección e identificación de anticuerpos irregulares” que dentro de los exámenes necesarios para una transfusión sanguínea segura se ignora el rastreo de anticuerpos irregulares debido a varios factores como la baja prevalencia reportada y la falta de significancia clínica (Valdés, 2001). Sin embargo el proporcionar sangre compatible y sin riesgo para el receptor es uno de los propósitos de las pruebas antes de la transfusión, de esta manera los pacientes con patologías hematológicas que requieren dentro de su esquema de tratamiento transfusiones sanguíneas constantes mantendrían una mejor calidad de vida. Con todo lo anteriormente mencionado el conocer la frecuencia y tipo de aloanticuerpo presente en pacientes hematológicos multitransfundidos ayudará a alertar a los servicios de medicina transfusional (Bancos de Sangre) de la necesidad de realizar un rastreo previo a estos pacientes.

### **Pregunta de Investigación.**

¿Cuál es la frecuencia y tipo de aloanticuerpo presente en pacientes multitransfundidos con patologías hematológicas?

### **3. OBJETIVOS:**

#### **3.1. OBJETIVO GENERAL:**

Establecer la frecuencia y tipo de aloanticuerpos en pacientes hematológicos multitransfundidos.

#### **3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- Identificar el tipo de aloanticuerpos circulantes en pacientes hematológicos multitransfundidos.
- Correlacionar la presencia de aloanticuerpos circulantes con el número de transfusiones sanguíneas recibidas.
- Correlacionar la presencia de aloanticuerpos con el tipo de diagnóstico hematológico.
- Correlacionar la presencia de aloanticuerpos con la edad del paciente.
- Establecer la prevalencia de aloanticuerpos en los pacientes con patologías hematológicas.

### **4. HIPÓTESIS:**

Ho: Todos los pacientes multitransfundidos no desarrollan anticuerpos irregulares

H<sub>1</sub>: Todos los pacientes multitransfundidos desarrollan anticuerpos irregulares.

## CAPITULO II

### MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

#### 5. ANTECEDENTES

El estudio se realizó a nivel de dos servicios de salud de la ciudad de Quito, en donde los pacientes con problemas hematológicos acuden para recibir atención médica, tratamiento terapéutico y transfusiones sanguíneas, los servicios elegidos fueron: el Hospital Baca Ortiz y Cruz Vital.

Cruz Vital es una institución creada para la atención de pacientes con afecciones hematológicas, a este centro acuden aproximadamente 30 personas diarias en busca de atención médica de las cuales el 80% sufren de afecciones hematológicas como leucemias, anemias, etc. (Cevallos, 2012) En el Hospital Baca Ortiz, cada año se diagnostican 150 nuevos casos de enfermedades hematológicas que afectan tanto a recién nacidos como a niños de hasta 14 años. Según el Registro Nacional de Tumores, el 35% de leucemias están presente en menores de 15 años (Estadísticas, Hospital Baca Ortiz, 2009).

Las enfermedades consideradas hematológicas constituyen un grupo de patologías que tienen su origen en células hematopoyéticas, generalmente estas enfermedades están acompañadas de anemia debida a varias causas, entre estas la más importante es la infiltración medular (Ruiz de Gaona, Rifón, Pérez Calvo, & Bendandi, 2007). Para tratar la anemia es necesario la administración de derivados sanguíneos que en ocasiones suele ser más de dos concentrados por semana, convirtiéndose en una ayuda terapéutica pero con un factor de riesgo por el número de veces y el tipo de derivado que utilizan estos pacientes; esto conlleva a convertir a la transfusión en nociva, es decir, que existe a nivel de los pacientes multitransfundidos un mayor riesgo de efectos adversos que incluyen: transmisión de patógenos, aloinmunización, reacciones alérgicas que pueden ser febriles y/o hemolíticas (Barba, 2004). Por lo tanto, la determinación de la aloinmunización en estos pacientes constituye una actividad que debería ser realizada en todos los servicios de medicina transfusional para prevenir las reacciones postransfusionales indeseables. (Quishi, y otros, 2012) (Zalpuri, 2012).

En el estudio realizado por Aygun en el año 2002, reportó la presencia de aloanticuerpos de significancia clínica en niños que recibieron un promedio de 23,3 unidades de sangre durante el tratamiento de su patología esto fue entre 2 a 3 años; el número de anticuerpos encontrados fue en un rango de 1 a 8 (Aygun 2002); a nivel de los pacientes adultos encontraron un 47% de aloinmunización. La significancia clínica de la presencia de estos aloanticuerpos fue la principal causa de reacciones hemolíticas, además de ello, el estudio de Aygun reportó reacciones no hemolíticas en pacientes que presentaban anticuerpos como el anti-Fya, anti-Jkb, anti-E y anti-C.

En México, se estableció un estudio que tuvo una duración de cuatro años cuyo objetivo principal fue la detección de aloanticuerpos tanto a nivel de donantes como pacientes, los resultados obtenidos permitieron proporcionar sangre fenotipada a 623 pacientes que presentaban anticuerpos irregulares. (Alcaráz-López, 2007); a parte de este logro establecieron un cálculo de las posibilidades de encontrar sangre compatible para pacientes que desarrollaron más de un aloanticuerpo, con esto pudieron establecer las reservas necesarias de hemoderivados para este tipo de pacientes.(Alcaráz-López, 2007) Esto también permitió crear una base de datos con los resultados obtenidos facilitando la búsqueda de sangre compatible y aumentando la posibilidad de contar con sangre disponible en forma oportuna. (Rodríguez Moyado, 2004). Hay que considerar que la identificación inequívoca del tipo de anticuerpos es indispensable por la significancia clínica que alguno de ellos presenta, como son los relacionados con el sistema Rh, Kell, Duffy, Kidd y Diego (Luna González, 2005).

La determinación de aloanticuerpos en los años 90, se realizaba utilizando la técnica manual en tubo, a pesar de ser una metodología utilizada de manera rutinaria y obtener buenos resultados existían errores que se cometían en los procesos previos como al preparar las células, durante el lavado, manipulación del operador o sobrecentrifugación. (Manlab, 2001). Con el avance de nuevas tecnologías se estableció y generalizó el uso de las pruebas de gel, técnica cuyo fundamento se basa en la separación por tamaño de los eritrocitos, así los aglutinados permanecerán en la parte superior por la imposibilidad de atravesar el gel, esta nueva metodología facilitó la estandarización y la lectura de la reacción antígeno-anticuerpo de manera fácil y reproducible, así como también estandarizó el uso racional de reactivos, tiempo y lecturas disminuyendo de manera sustancial la influencia de la manipulación del

operador (Ortiz, 2000) (Gustafsson, Wikman, & Lundahl, 2004). La ventaja del uso de la técnica en gel además de la reproductibilidad es el volumen de muestra que es solo de 25  $\mu$ l, no se requiere lavar las células y la escasa manipulación por parte del operador, además es fácil de realizar e interpretar.

Entre las desventajas de la identificación de anticuerpos irregulares son las varias repeticiones e incubaciones que requiere la técnica y en ocasiones la subjetividad de la lectura tanto en la observación directa como en la automatizada afecta la efectividad de la prueba (American Red Cross, 2000). A pesar de ello, reduce la posibilidad de obtener resultados falsos positivos por pseudoaglutinación (fenómeno de Rouleaux) que ocurre durante las pruebas efectuadas en tubo, esto no ocurre en gel, así también la presencia de hemolisinas a menudo no observadas por los técnicos se manifiestan en el gel como aglutininas, evitando que los anticuerpos de significancia clínica pasen desapercibidos y sean catalogados como resultados falsos negativos (Manlab, 2001). La detección de los anticuerpos irregulares con significación clínica a nivel de pacientes que requieren transfusiones periódicas, es de suma importancia para evitar que se utilicen derivados sanguíneos que posean el antígeno contra el cual va dirigido el aloanticuerpo. Así también la elección de una técnica adecuada constituye otro de los aspectos importantes dentro de la detección de anticuerpos irregulares de bajo título o mezcla de anticuerpos.

## 6. MEDICINA TRANSFUSIONAL.

La historia de la medicina transfusional se relata desde el siglo XV, los primeros intentos lo realizó Jean Baptiste Dennis al transfundir sangre de cordero, obteniendo como resultado una crisis hemolítica intravascular con una consecuencia fatal que fue la muerte del paciente, tras este incidente se dio la prohibición total de estas prácticas médicas, retrasando los avances en esta área por varios años. (Zavala Bonilla, 2005).

En 1835 James Blundell tuvo éxito al realizar una transfusión de paciente a paciente, lo que hoy se conoce “brazo a brazo” esto demostraba la existencia de una compatibilidad entre las personas (Zavala Bonilla, 2005). Durante la Primera Guerra Mundial todos los científicos relacionados con transfusiones tuvieron que enfrentar el problema de la coagulación una vez que la sangre ha sido extraída, trabajos realizados por Hustin, Agote, Lewisohn y Roberson demostraron que la adición de citrato a las unidades de sangre obtenida ayuda a evitar la coagulación de las mismas. (Grífols Ronda, 2009) Sin embargo, el ucraniano Shamoff fue quien propuso la utilización de sangre proveniente de cadáveres como “constante y segura”; esto fue aceptado en 1932 por Yudín, publicando los resultados preliminares de “100 transfusiones a pacientes de cadáveres con éxito” y lo amplió a más de 1000 en 1937 (Grífols Ronda, 2009). Sin embargo, esta práctica no fue considerada en otros países ni implementada.

Posteriormente se realizaron varios estudios en donde Landsteiner en 1901 publicó su trabajo denominado “Agglutination phenomena in normal human blood” describiendo así las tendencias de aglutinación en ciertas ocasiones al confrontar dos sangres de individuos diferentes (Grífols Ronda, 2009). Este estudio finalizó con el descubrimiento de los grupos sanguíneos.

En el siglo XX se demostró que en la membrana de los eritrocitos se encuentran agentes antigénicos lo cual llevo a investigar la existencia de anticuerpos naturales desarrollándose así el conocimiento del sistema ABO, Rh y sus reacciones antígeno anticuerpo; en estudios posteriores se estableció que la administración de anti-Rh en forma de globulina inmune prevenía la isoimmunización Rh y ayudaba a prevenir la enfermedad hemolítica del recién nacido (Salvatella Flores, 2008).

Hasta la actualidad se han descubierto un total de 23 sistemas de grupos sanguíneos eritrocitarios, su composición bioquímica, funciones y su localización cromosómica así como su polimorfismo causante de la respuesta inmune a nivel de los receptores. (Rodríguez Moyado, 2004). Todos estos descubrimientos y la necesidad de productos sanguíneos para el tratamiento de ciertas patologías, accidentes o pérdida masiva de sangre dieron lugar a nuevos investigadores es así que Duran-Jordá pone de manifiesto un nuevo contexto “la sangre debe esperar a los receptores y no al revés” (Rivera, y otros, 2007) bajo este concepto desarrolla un sistema de donación voluntaria, transporte a la zona de guerra de los productos y la realización de pruebas previas a la transfusión todo esto a través de personal capacitado (Rivera, y otros, 2007). En este momento es cuando surge el concepto de Banco de Sangre.

Desde el año de 1960 que se inicia la era de los “Bancos de Sangre” comienza su desarrollo y perfeccionamiento tecnológico (Salvatella Flores, 2008), en la actualidad existen metodologías aplicadas a obtener derivados sanguíneos de alta calidad, pruebas pretransfusionales y detección de agentes infecciosos de acuerdo al perfil epidemiológico de cada país (Organización mundial de la Salud, 2009), tomando en cuenta reactivos que acorten el periodo de ventana a través del uso de reactivos de cuarta generación como es el caso de la determinación de los portadores del virus de inmunodeficiencia humana (VIH).

## **7. LEGISLACIÓN Y MEDICINA TRANSFUSIONAL**

La terapia transfusional es una de la prácticas desarrolladas para disminuir la mortalidad y mejorar la calidad de vida de las personas con diferentes patologías o por pérdidas de sangre (MSP, 2008). Sin embargo conlleva varios riesgos que pueden ocasionar daños irreparables a la persona que recibe los productos, tales como: transmisión de agentes infecciosos, reacciones postransfusionales o sobrecarga de hemocomponentes (Rodríguez Moyado, 2004). Es por esta razón que se han creado varios estándares de calidad y seguridad para la recolección, fraccionamiento, análisis, despacho y utilización de los hemoderivados (MSP, 2008).

En Ecuador, se crearon varios reglamentos incluidos en el Manual de Criterios Técnicos-Administrativos del Ministerio de Salud Pública en el que se establecen los criterios mínimos de implementación de los servicios de medicina transfusional en relación a equipamiento, espacio físico y personal (MSP, 2008). Además de estos aspectos se establecen las funciones de un servicio de medicina transfusional en el que se menciona que se deben “Realizar todas

*las pruebas pretransfusionales pertinentes tanto del paciente como de los hemocomponentes antes de ser administrado” (MSP, 2008).*

A pesar de ser mencionado en este Manual del Ministerio de Salud Pública, a nivel de los Bancos de Sangre del país no se realizan pruebas de escrutinios de anticuerpos irregulares en pacientes multitransfundidos lo que ocasiona demoras en la entrega del derivado sanguíneo así como el uso de productos no compatibles y la destrucción de los derivados del donante por la presencia de estos anticuerpos en el receptor, ocasionando que se requiera una mayor cantidad de transfusiones. Es necesario establecer reglamentos que eviten y prevengan el uso inadecuado y en ocasiones excesivo de derivados sanguíneos que pueden ocasionar la presencia de enfermedades hemolíticas, transmisión de enfermedades infecciosas en periodo de ventana (Hepatitis B, C, SIDA entre otras) y por último la sensibilización innecesaria del receptor que genera reacciones adversas inmediatas y tardías (Céspedes Quevedo, 2002). Estudios demuestran que en pacientes con problemas de cáncer pulmonar, esófago y riñón han experimentado reacciones transfusionales que han disminuido su calidad de vida por la producción de aloanticuerpos ocasionados por estímulos antigénicos constantes. (Céspedes Quevedo, 2002). Varios estudios han demostrado que las transfusiones sanguíneas en varias ocasiones son innecesarias y poco valoradas por los comités de los diferentes centros hospitalarios lo que ha ocasionado la sensibilización de los receptores y mayor número de reacciones postransfusionales (Juárez-Rangel, Vite-Casanova, Marín y López, & Sánchez-Guerrero, 2004).

Generalmente una aloinmunización ocurre dentro de las primeras 24 horas y deben ser comunicadas rápidamente y documentadas, con ello el médico tendrá una orientación cuando realice su próximo pedido de derivados sanguíneos (Juárez-Rangel, Vite-Casanova, Marín y López, & Sánchez-Guerrero, 2004). Es por esto que la hemovigilancia es uno de los aspectos más importantes que permiten establecer los nuevos requisitos pretransfusionales para los pacientes que requieren recibir productos sanguíneos, la documentación es la que hace posible un seguimiento adecuado e incluso optar por un transfusión oportuna y eficaz (Barrios, Contreras, & Pujol, 2002). El reporte de reacciones transfusionales permite su investigación y la determinación de las causas y finalmente la aplicación de acciones correctivas.

## **8. TRANSFUSIÓN SANGUÍNEA COMO TRATAMIENTO TERAPEÚTICO**

En la actualidad la medicina transfusional es un método eficaz de tratamiento terapéutico, sin embargo se ha puesto “en duda” su seguridad y eficacia (Pérez, Díaz, & Pérez, 2009). Uno de los objetivos primordiales de la transfusión sanguínea es el transporte de oxígeno a los tejidos, pero en algunos estudios no se ha confirmado este beneficio (Pérez, Díaz, & Pérez, 2009). A pesar de ello, en la actualidad los concentrados eritrocitarios son utilizados para mejorar el proceso de respiración celular de los pacientes con patologías en las que es imposible producir células que sean eficientes o en aquellos que experimentan pérdidas sanguíneas masivas, obteniendo buenos resultados (Luna González, 2005).

No obstante en el estudio realizado por Luna González se mencionan ciertos efectos considerados nocivos y denominados “reacciones transfusionales” ocasionados por varios factores como contaminación bacteriana, incompatibilidad o respuesta inmune ante antígenos no propios (Luna González, 2005); que ocasionan la formación de anticuerpos frente a antígenos de las células sanguíneas, plaquetas o sistema HLA, siendo los anticuerpos antieritrocitarios los más nocivos ya que estos han provocado la muerte de aproximadamente el 40% de pacientes con incompatibilidad ABO (Luna González, 2007).

Además de estos anticuerpos se producen otros contra sistemas de antígenos eritrocitarios diferentes al ABO dando lugar a los llamados aloanticuerpos o anticuerpos irregulares (Luna González, 2005) que también son conocidos por las reacciones postransfusionales tardías.

El principal efecto de una reacción transfusional constituye la destrucción de los eritrocitos de forma casi inmediata por los anticuerpos presentes en el plasma del paciente o receptor, produciéndose la activación del complemento ocasionándose una hemólisis intravascular que conduce al shock y coagulopatías que se asociará con falla multiorgánica con daño renal y respiratorio pudiendo terminar con la muerte del paciente (AABB, 2000). Una de las principales causas para que una transfusión sanguínea fracase constituye “el factor humano” por errores introducidos durante la realización de las pruebas, elección errónea del concentrado de eritrocitos y la exigencia de los galenos por obtener los derivados sanguíneos de forma inmediata (AABB, 2000). Es por esta razón que la práctica transfusional tiene

ventajas y desventajas que deben ser analizadas antes de su uso como terapéutica (Zavala Bonilla, 2005) (AABB, 2000).

Varios estudios e investigaciones de la eficacia de una terapia transfusional con concentrados de hematíes recomiendan la importancia de tomar en cuenta varios factores relacionados con el paciente como receptor de los beneficios que aporten, así debe considerarse un tratamiento individualizado valorando las características propias de cada caso y la dosis adecuada de acuerdo al objetivo básico de la transfusión tomando en cuenta siempre el “menor riesgo para el paciente y el producto sanguíneo adecuado a ser utilizado” (Barrios, Contreras, & Pujol, 2002) (MSP, 2008) (Grífols Ronda, 2009).

## **9. TRANSFUSIÓN DE COMPONENTES SANGUÍNEOS**

Como se mencionó anteriormente la transfusión de concentrados eritrocitarios es para evitar una hipoxia tisular (Pérez, Díaz, & Pérez, 2009). El uso del oxígeno desde la atmósfera hasta la célula es un proceso en el que intervienen varios mecanismos que se interrelacionan entre ellos (Sociedad Española de Transfusión Sanguínea, 2010):

- a) Pulmonar: Captación de oxígeno a nivel alveolar
- b) Transporte de oxígeno por la sangre: contenido arterial de O<sub>2</sub>
- c) Gasto cardíaco
- d) Intercambio periférico de oxígeno: difusión de O<sub>2</sub> del capilar a la célula.
- e) Respiración celular: utilización del O<sub>2</sub> por la célula.

Si estos sistemas realizan una buena correlación entre ellos el aporte de oxígeno será adecuado y aportará los beneficios requeridos, pero a nivel de la sangre el transporte de oxígeno ocurre de la siguiente manera: el O<sub>2</sub> disuelto en sangre es del 2%; el oxígeno está unido al hierro de forma reversible al grupo hemo de la hemoglobina (Sociedad Española de Transfusión Sanguínea, 2010). Por lo tanto, la cantidad de oxígeno que transportará la hemoglobina es de 1,34 ml por gramo de hemoglobina (AABB, 2000); es decir que una persona que tenga 11-15g/100 ml de hemoglobina podrá transportar 15 a 20 ml de oxígeno por cada 100 ml de sangre (Sociedad Española de Transfusión Sanguínea, 2010). Con estas consideraciones se puede afirmar que un adulto consumirá de 200-250 ml de oxígeno por minuto para mantener el metabolismo celular. Bajo estas consideraciones se puede definir como anemia, la

disminución de la concentración de hemoglobina de los parámetros establecidos entre hombres y mujeres; y la disminución de la masa eritrocitaria que condiciona el nivel de hemoglobina (Sociedad Española de Transfusión Sanguínea, 2010) (Rueda Ordoñez, 2008).

La manifestación de una anemia grave considerada sistémica intervienen características generales como: palidez de la piel, astenia, disnea de esfuerzo; cardiovasculares; neurológicas como cefalea y vértigos; renales como edemas de extremidades (AABB, 2000) (Rueda Ordoñez, 2008). Con esta sintomatología clínica y sumando los exámenes de laboratorio deciden si un paciente debe ser transfundido o no, y de hacerlo debe seleccionarse un producto sanguíneo seguro y eficaz. (Ortiz, Mingo, & Lozano, 2005).

La anemia es una de las complicaciones que empeora la salud de los pacientes con leucemias, especialmente en el momento de decidir el tratamiento, el primer paso consiste en determinar la “estrategia terapéutica”; es decir identificar que mecanismo está provocando la anemia (Ruiz de Gaona 2007). Estudios han demostrado que la anemia puede ser atribuida a diversas circunstancias como la hemólisis autoinmune característica de las leucemias linfoblásticas, infiltración medular que ocurre en la mayoría de enfermedades hematológicas, el hiperesplenismo signo clínico característicos de patología hematológicas y los trastornos metabólicos del hierro (Ruiz de Gaona, 2007). Dentro del protocolo de manejo a los pacientes están considerados cuatro aspectos: tratamiento antineoplásico, tratamiento de las complicaciones, prevención y apoyo psicológico. (Argote, 2006)

El tratamiento antineoplásico depende de cada paciente y pueden ser a base de quimioterapia y radioterapias ya sea solas o combinadas con esquemas variables de acuerdo a cada enfermedad; en el caso de complicaciones como las anemias que pueden ser graves se requiere el uso de concentrados eritrocitarios leucorreducidos para evitar la sensibilización del paciente contra antígenos, en general el objetivo es mantener cifras de Hb >10gr/dl para mantener una adecuada oxigenación de los tejidos durante su tratamiento, por lo que deben ser completamente compatibles ya que al existir algún anticuerpo irregular este disminuye la vida de los eritrocitos que presenten el antígeno correspondiente (Argote, 2006); una de las causas por las que los pacientes hematológicos necesitan varias transfusiones constituye la disminución de la vida útil de los glóbulos rojos por la presencia de anticuerpos irregulares o

por otros mecanismos propios de la enfermedad como los medicamentos que deben administrarse durante su tratamiento (Aristizábal, 2007).

En estos pacientes se ve dificultado el tratamiento por el desarrollo de una aloinmunización, producto de las transfusiones previas, por lo que encontrar sangre compatible constituye un problema dado que en el suero del paciente están aloanticuerpos que reaccionan con los eritrocitos que poseen los antígenos correspondientes pudiendo provocar desde reacciones hemolíticas leves hasta graves (Aristizábal, 2007).

Uno de los aspectos importantes es la evaluación médica y la historia clínica del paciente, este constituye el primer paso para una correcta práctica transfusional, hay que considerar que la transfusión es una de las actividades que deben mantener un control de calidad riguroso sin embargo, la metodología utilizada en las pruebas pretransfusionales varían según los recursos de los laboratorios, urgencia y condición del paciente (Zavala Bonilla, 2005).

### **9.1. Tipos de Patología que cursan con anemia: Anemia Aguda**

Esta puede darse luego de un accidente, intervenciones quirúrgicas o traumatismos, la pérdida es de sangre total y tendrá que ser corregida con el uso de varios componentes sanguíneos (Ortiz, Mingo, & Lozano, 2005) (Sociedad Española de Transfusión Sanguínea, 2010). Debe tomarse en cuenta que se debe corregir la volemia o el transporte de oxígeno de acuerdo a la pérdida de sangre; la transfusión se realizará en pacientes que tengan  $<8\text{g/dl}$  con hemorragia incontrolada o  $> 65$  años; diabéticos; enfermedad vascular, respiratoria; o en pacientes con problemas cardíacos o respiratorios (Sociedad Española de Transfusión Sanguínea, 2010); o con síntomas de anemia hipóxica.

### **9.2. Anemia crónica**

Este tipo de anemia debe tratarse de acuerdo al cuadro clínico que se presente y debe principalmente corregirse la causa del déficit: vitamina B12; hierro y factores que provocan anemia. (Ortiz, Mingo, & Lozano, 2005). La anemia crónica suele presentarse en pacientes con hemopatías malignas y neoplasias, el nivel de hemoglobina a mantenerse es 8 a 9 gr/dl

### **9.3. Anemia Hemolítica Autoinmune:**

Los pacientes que presentan una anemia hemolítica autoinmune no deben ser transfundidos salvo casos de necesidad urgente, debe utilizarse otras terapias de acuerdo a su estado, ya que la transfusión lo agravaría por la hemólisis debida a anticuerpos presentes en el suero del paciente (Sociedad Española de Transfusión Sanguínea, 2010).

Sin embargo, al requerir una transfusión sanguínea debe seguirse un protocolo estricto (Engelfriet CP, 2000) para utilizar el producto sanguíneo adecuado dentro de los procesos esta una tipificación correcta utilizando como control negativo la albúmina; para el sistema Rh utilizar un reactivo monoclonal y un control negativo; fenotipo del Rh y escrutinio de anticuerpos y de ser necesario utilizar las técnicas de elusión y autoabsorción del suero del paciente que permitirá establecer qué tipo de aloanticuerpos están presente además del autoanticuerpo (Engelfriet CP, 2000) (AABB, 2000).

### **9.4. Anemia en pacientes pediátricos:**

La transfusión sanguínea en un niño tiene la misma finalidad que en el adulto (Ortiz, Mingo, & Lozano, 2005). Este estudio fue realizado a nivel de niños con leucemia linfoblástica aguda, este tipo de patología se caracteriza por provocar infiltración medular, en sangre y/o en tejidos por células neoplásicas (Sánchez & Barrientos, 2007), dentro de las manifestaciones clínicas esta la anemia y del 33 al 43% de los pacientes presentan sangrado por trombocitopenia, por lo que es requerido la transfusión de componentes sanguíneos como hematíes y plaquetas (Sociedad Española de Transfusión Sanguínea, 2010).

El desarrollo de anemia es característico de la leucemia linfoblástica y puede presentarse en varios episodios durante la evolución de la enfermedad, esto puede ser al momento del diagnóstico o como consecuencia del tratamiento (Ruiz de Gaona & J. Rifón, 2007). Constituye importante mencionar que todos los tipos pronósticos de leucemia linfoblástica consideran a la anemia como característico del estadio avanzado de la enfermedad. (Ruiz de Gaona & J. Rifón, 2007). Estudios realizados han determinado un 13% de incidencia de anemia en estos pacientes (Ruiz de Gaona & J. Rifón, 2007).

Por consiguiente la presencia de anemia en estos pacientes y su condición clínica predisponen al uso de concentrados eritrocitarios de manera constante y su predisposición a una aloinmunización.

### **9.5. Anemia y Drepanocitosis**

La anemia en estos pacientes se presenta en los primeros meses de vida ocasionada por una hemólisis crónica debida al cambio de la hemoglobina S por la fetal presentando una reticulocitosis intensa (Sociedad Española de Transfusión Sanguínea, 2010). Dentro de esta patología es común las crisis vasculares oclusivas por el acumulo de células drepanocíticas (Gavin Cho, 2011). La transfusión sanguínea rutinaria en estos pacientes constituye el mejor tratamiento tanto para corregir la anemia como para prevenir sus complicaciones (Gavin Cho, 2011) (Cortina Rosales Lázaro, 2003).

A pesar de ofrecer beneficios como el aumento de hematocrito, dilución y remoción de las células que poseen hemoglobina S, disminución de la viscosidad de la sangre y mejorar el flujo sanguíneo; las transfusiones sanguíneas frecuentes en estos pacientes traen riesgos entre ellos la sobrecarga de hierro y la aloinmunización contra antígenos eritrocitarios siendo la más reportada por la hemólisis que se produce, por lo que debe ser valorada en el momento de tomar la decisión de transfusión profiláctica (Sociedad Española de Transfusión Sanguínea, 2010) (Cortina Rosales Lázaro, 2003).

Dentro de los exámenes que deben ser realizados está el “fenotipo extensivo” para obtener un paquete globular o concentrado eritrocitario lo más compatible posible. La aloinmunización en estos pacientes está calculada en aproximadamente el 25-30% (Telen, 2001), los anticuerpos mayormente desarrollados están relacionados con el sistema Rh, Kell y Kidd.

### **9.6. Síndrome de Evans**

Este síndrome se caracteriza por estar acompañado de trombocitopenia inmune y anemia hemolítica autoinmune. (Correa González, 2010). Al tratarse de un síndrome este debe ser tratado de acuerdo a la sintomatología presentada, las transfusiones sanguíneas a tiempo resultan ineficaces por la producción de autoanticuerpos y aloanticuerpos, siendo utilizadas únicamente para estabilizar al paciente, sin embargo dura poco ya que las células eritrocitarias son destruidas rápidamente por los anticuerpos del paciente (Hernández Velasco, 2012). Lo

que mejora su transfusión es la determinación del autoanticuerpo y el posible aloanticuerpo presente en el paciente y la utilización de concentrados fenotípicamente compatibles.

## **10. ALOINMUNIZACIÓN**

Se define como aloinmunización a la producción de anticuerpos frente antígenos eritrocitarios esta situación puede darse luego del embarazo, transfusión y/o trasplante de tejidos (Jiménez & Pineda, 2001). La aloinmunización produce los llamados “anticuerpos inesperados” o irregulares y su incidencia es variable y depende del estímulo al que haya estado expuesta una persona (Dueñas, Cortés, Rovetto, & Neuta, 1999). Se ha determinado una frecuencia del 1 al 2% de aloinmunización a nivel de pacientes en general, sin embargo al tomar en consideración determinados grupos de personas esta incidencia varía sustancialmente, así a nivel de donantes se espera 0,2 a 0,8%; paciente que reciben transfusiones de forma repetitiva puede variar entre 7-76% (Cortes Buelvas, 2012).

Dentro de las causas que ocasionan una aloinmunización se encuentra: la conformación genética del receptor; los antígenos extraños del donante; que el receptor presente diferencia en el complejo mayor de histocompatibilidad y la diferencia étnica entre receptor y donante (Cortes Buelvas, 2012). Otra causa constituye una repetida exposición a antígenos eritrocitarios es decir un número mayor de transfusiones, se ha estimado que el 4% de pacientes presentó aloanticuerpos antes de la décima unidad y de 6,5-14% cuando han recibido la cuarentava unidad sanguínea (Cortes Buelvas, 2012) (Dueñas, Cortés, Rovetto, & Neuta, 1999).

Generalmente, las personas que no han tenido un estímulo antigénico presentan de forma natural anticuerpos del sistema ABO que son de tipo IgM y pueden producir reacciones transfusionales fatales, se ha reportado que el 13% de personas que han muerto fue por transfusiones sanguíneas debidas a incompatibilidad ABO (Cortes Buelvas, 2012). Los anticuerpos que siguen en importancia son los del sistema Rh ya que estos se encuentran implicados en el 50% de las reacciones postransfusionales (Dueñas, Cortés, Rovetto, & Neuta, 1999). Además se han reportado anticuerpos contra el sistema Kell y Duffy y existen pacientes que presentan dos aloanticuerpos a la vez siendo los más comunes anti-E y anti-Kell (Muñiz & Vega, 2009).

También es conocido que los aloanticuerpos eritrocitarios “desaparecen” con el tiempo debido a que disminuye sus niveles en el plasma, siendo indetectables a nivel de las pruebas rutinarias de laboratorios, se ha estimado que 30-35% desaparecen al año de su detección siempre y cuando no haya existido un nuevo contacto con el antígeno que estimulo su presencia (Muñiz & Vega, 2009). Igualmente el 50% disminuye sus niveles en el plasma luego de 10 años, dentro de este grupo se encuentran los anti-Jk(a), anti-c y anti-e siendo los de mayor riesgo de una enfermedad hemolítica tardía luego de una nueva transfusión; es decir un nuevo estímulo antigénico (Muñiz & Vega, 2009).

El significado clínico de la presencia de aloanticuerpos se determina valorando los siguientes aspectos: tipo de aloanticuerpo IgM o IgG; capacidad de producir una estimulación del complemento que provoca una hemólisis intravascular o extravascular; y si se trata de anticuerpos contra antígenos de alta frecuencia lo que provoca es una dificultad en encontrar sangre compatible. (Engelfriet CP, 2000) (Muñiz & Vega, 2009).

La clasificación de los aloanticuerpos se encuentra en relación con su significancia clínica, frecuencia del antígeno correspondiente y disponibilidad de reactivos para su identificación (AABB Technical, 1999) (Muñiz & Vega, 2009):

- a) Anticuerpos clínicamente significativos: anti-D, -E, -e, -C, -c, -K- -Fya, -Fyb, -JKa, -JKb, -S, -s. Para la transfusión sanguínea se sugieren componentes carentes de los antígenos complementarios. (Muñiz-Díaz, 2012)
- b) Anticuerpos de significado clínico cuestionable: anti-Lea, -Leb, -Lua, -M, -N, P1, -H/HI/Hi, -I/i. Ante la presencia de estos anticuerpos se pueden utilizar cualquier componente sanguíneo que tenga un resultado negativo en las pruebas cruzadas. (Muñiz-Díaz, 2012)
- c) Anticuerpos “HTLA”: anti-Ch, -Rg, -Cs°, Kna, MCCA, SIa, Yka, -JMH, -SDa; el mayor riesgo que presentan estos anticuerpos es que enmascaran a los clínicamente significativos; se requiere buscar componentes sanguíneos que no tengan los antígenos eritrocitarios correspondientes. (Muñiz-Díaz, 2012)

- d) Anticuerpos frente a antígenos de baja frecuencia: anti-Cw, -Jsa, -Kpa, -V, -WRa, -Xga; el riesgo al que se enfrenta el banco de sangre es la imposibilidad de identificar a antígenos correspondientes por la falta de reactivos de tipaje.
- e) Anticuerpos contra antígenos de alta frecuencia: anti-Ge, -Hy, -Jsb, -k, -Kpb, Lan, -Lub, -P+P1+pk, -U, -Vel, -Yta, -Co, estos son potencialmente significativos y muy complejo encontrar sangre compatible ya que son de alta frecuencia es decir comunes en la población.

### 10.1. Principales Grupos Sanguíneos Eritrocitarios:

Sistema Sanguíneo	Antígenos	Anticuerpos
<b>ABO</b>	A B AB	Anti-B Anti-A ninguno
<b>RH</b>	D D	Ninguno Anti-D
	C E c e	Anti-C Anti-E Anti-c Anti-e
<b>MNS</b>	M N S S	Anti-M Anti-N Anti-S Anti-s
<b>Kell</b>	K K	Anti-K Anti-k (cellano)
<b>Lewis</b>	Le Le Le le le le	Anti-Lea Anti-Leb
<b>Duffy</b>	Fy (a+b-) Fy (a+b+) Fy ( a-b+) Fy (a-b-)	Anti -Fya Anti- Fyb Anti-Fy3 Anti-Fy5
<b>Kidd</b>	Jk (a+b-) Jk (a+b+) Jk(a-b+) Jk (a-b-) muy raro	Anti- Jka Anti- Jkb Anti- Jk3 se produce en individuos del fenotipo Jk (a-b-)
<b>Lutheran</b>	Lu (a+b-) Lu (a+b+) Lu (a-b+) Lu (a-b-)	Anti- Lua Anti-Lub Anti- Lu3 Anti-Lu4
<b>P</b>	P1 P Pk	Anti-P1 Anti-Pka Anti-Pkb

Fuente:(Barbolla.L, 2008).

## **11. REACCIONES POSTRANSFUSIONALES**

Las reacciones postransfusionales son reacciones que ocurren en el paciente ya sea en el momento de la transfusión o después de recibir un hemocomponente es por esto que se dividen en inmediatas o tardías (González, 2007); este riesgo puede presentarse principalmente por la “diferencia genética de persona a persona” (González, 2007) este hecho estimula al sistema inmune que reconocerá las células sanguíneas como extrañas para el organismo del receptor ocasionando las denominadas “reacciones transfusionales” (González, 2007).

Existen otros factores de riesgo a los que están expuestos los pacientes que requieren varios derivados sanguíneos como: adquirir enfermedades infecciosas como HIV, HCV, Chagas, Sífilis, hepatitis C y contaminación bacteriana, en ciertas ocasiones por un mal procedimiento de la técnica en la obtención de los hemoderivados, errores en la determinación serológica, periodo de ventana, mal reporte, todo esto conlleva a obtener sangre “no segura” (AABB, 2000) (Aspilcueta, 2008) (Luna González, 2005)

Los signos y síntomas no son muy específicos cuando un paciente tiene una reacción postransfusional y suelen ser muy variados entre los cuales se puede mencionar fiebre, sudoración, vómitos, dolor lumbar, prurito, rubor, cianosis, taquicardia, taquipnea, diátesis hemorrágica e incluso situaciones de shock. En un paciente inconsciente o anestesiado, los signos prácticamente se reducen a hipotensión y diátesis hemorrágica<sup>1</sup> (Aspilcueta, 2008).

## **12. PRUEBAS PRETRANSFUSIONALES**

De acuerdo a los requerimientos internacionales se han establecidos los siguientes procedimientos para evitar problemas postransfusionales: Solicitud de los productos y datos relevantes del paciente como; identificación correcta del receptor; estudios del donador que incluyen pruebas serológicas; determinación del grupo sanguíneo tanto del donador como del receptor; y detección de anticuerpos irregulares (AABB, 2000), en algunos países como en los europeos es obligatorio el fenotipo extensivo tanto del receptor como del donante antes de la transfusión. Las pruebas pretransfusionales demuestran la presencia de antígenos y/o

---

<sup>1</sup> Condición del organismo congénita o adquirida que predispone a sangrar de forma anómala.

anticuerpos que puede presentar un paciente, siempre y cuando sean realizadas bajo estrictas normas de calidad (Zavala Bonilla, 2005); la inclusión de las pruebas de “rastreo de anticuerpos” constituye un aspecto importante dentro de la obtención de sangre “compatible y segura”. En la actualidad las pruebas de gel se encuentran disponibles y sirven para la determinación de los diferentes tipos de inmunoglobulinas especialmente IgG que son de significancia clínica en transfusiones de derivados sanguíneos, además permiten identificar las fracciones de complemento pegadas a los glóbulos rojos (DASS & Chaudhary, 2007); de tal manera que han simplificado la caracterización serológica de la presencia de anticuerpos.

Por lo tanto, bajo la finalidad de evitar reacciones adversas postransfusionales en el laboratorio de banco de sangre se realizan exámenes pretransfusionales, partiendo del concepto de compatibilidad como la falta de reacción inmune entre antígenos (Donante) y anticuerpos (Receptor) indicando que no existirá una respuesta inmune adversa durante o después de la transfusión sanguínea. (Barbolla.L, 2008).

Estas pruebas ayudan a detectar posibles anticuerpos contra antígenos entre el suero del receptor y las células a ser transfundidas, asegurando así la compatibilidad entre donante y receptor, tomando en cuenta que este proceso no previene en un 100% la reacción hemolítica retardada ni la aloinmunización (Barbolla.L, 2008); esto se debe a que a nivel de las células sanguíneas, existe en su membrana proteínas que actúan como antígenos provocando la formación de anticuerpos en los receptores al recibir sangre incompatible (aloinmunización). Dentro de esto se debe considerar que existen anticuerpos que pueden aparecer de forma natural como los del sistema ABO o provocados por la transfusión que se conocen como aloanticuerpos o anticuerpos irregulares, siendo estos relacionados directamente con reacciones postransfusionales. (Barbolla.L, 2008).

### **12.1 Fundamento de las pruebas**

Las pruebas pretransfusionales se fundamenta en el rastreo de anticuerpos o antígenos que puedan ocasionar reacciones postransfusionales. Por tanto su objetivo constituye seleccionar para cada paciente los derivados sanguíneos idóneos e inocuos que garanticen la supervivencia de los elementos celulares de forma óptima y beneficiosa (AABB, 2000).

## **12.2 Proceso de las pruebas pretransfusionales**

Para realizar una transfusión sanguínea debe seguirse varios procesos que conllevan desde el pedido de la transfusión hasta la entrega de los derivados sanguíneos (AABB, 2000). Dentro de estos procesos la identificación del paciente desde el momento de la extracción de la muestra hasta la administración del producto sanguíneo constituye la parte “más importante” ya que se ha documentado que la gran mayoría de errores y accidentes transfusionales han ocurrido en este proceso (SETS, 2010).

Las fases de este proceso son:

### **12.2.1 Pedido de transfusión:**

Generalmente es realizada en documentos estandarizados los que deben contener información relevante del paciente: identificación completa, motivo del pedido, edad, transfusiones anteriores, antecedentes obstétricos (mujeres), diagnóstico, nombre del médico, plan de uso (emergencia, sin prueba cruzada, urgente, al día, reserva, cirugía programada), y por último la firma de responsabilidad del solicitante y de la persona que extrajo la muestra. A esta petición la acompaña la muestra extraída y rotulada. Rechazándose un pedido incompleto (AABB, 2000).

### **12.2.2 Muestra del receptor:**

Como se mencionó anteriormente debe estar correctamente identificada siendo esto una medida de seguridad para evitar errores fatales por equivocación del paciente. La muestra para pacientes con cirugía programada debe extraerse con máximo 3 días de anterioridad. (AABB, 2000).

### **12.2.3 Tipo de muestra:**

Generalmente se utiliza suero y/o plasma, en el caso de niños menores de 4 meses se utilizará el suero de la madre para el estudio de anticuerpos irregulares (AABB, 2000).

### **12.2.4 Conservación de la muestra:**

Se recomienda guardar las muestras por 7 días después de la transfusión (AABB, 2000).

### 12.3 Pruebas serológicas

El propósito de las pruebas es respetar la compatibilidad del grupo ABO entre el receptor y el donante, la única excepción son los casos de urgencia en los que se utilizará sangre tipo O Rh negativo. (AABB, 2000)

#### 12.3.1 Determinación del grupo ABO:

Es importante su determinación por la orientación que brinda al transfundir sangre, pero es necesario conocer que aparte de los 4 grupos sanguíneos (A, B, AB, O) existen subgrupos adicionales que tienen distintos patrones de aglutinación por lo tanto la identificación de los subgrupos del sistema ABO es una prueba pre-transfusional obligatoria con la finalidad de evitar reacciones adversas. (Arbeláez García, 2009).

La determinación del grupo ABO se realiza por dos procedimientos:

**Grupo Directo:** conocido como grupo hemático y se fundamenta en la determinación de antígenos en la membrana de los eritrocitos con antisueros comerciales.

**Grupo Inverso:** llamado también grupo sérico en esta prueba se determina la presencia en el suero de anticuerpos contra antígenos ABO.

La comparación de los resultados obtenidos tanto en el grupo directo como inverso permitirá establecer discrepancias que deberán ser estudiadas (AABB, 2000). Es necesario tomar en cuenta la existencia de subgrupos y sus respectivos anticuerpos (Tabla N°1).

**Tabla N° 1 Antígenos y Anticuerpos de grupos y subgrupos del sistema ABO**

Antígenos y anticuerpos del sistema sanguíneo ABO			
Grupo	Subgrupo	Antígenos sobre los eritrocitos	Anticuerpos (aglutininas en el suero)
O	—	Ninguno <sup>o</sup>	Anti-A Anti-A <sub>1</sub> Anti-B Anti-AB <sup>o</sup>
A	A <sub>1</sub> A <sub>2</sub>	A + A <sub>1</sub> A	Anti-B
B	—	B	Anti-A Anti-A <sub>1</sub>
AB	A <sub>1</sub> B A <sub>2</sub> B	A + A <sub>1</sub> + B A + B	Ninguno <sup>o</sup>

Fuente: (Barbolla.L, 2008).

### **12.3.2 Determinación del Factor Rh:**

Su determinación es de suma importancia para evitar la aloinmunización y reacciones postransfusionales posteriores. Del análisis de resultados realizado en la tesis denominada “Análisis retrospectivo de la frecuencia y tipo de anticuerpos irregulares en donantes de sangre del Hemocentro de la Cruz Roja, 2009-2012” se determinó la presencia de anticuerpos anti-D en un 40% de los donantes y anti-E 27% aloanticuerpos relacionados con el sistema Rh (Ulloa, 2012). Por lo tanto se debe elegir reactivo de tipo monoclonal y en los grupos tipificados como Rh negativos realizar las pruebas Du para determinar personas portadoras Rh parcial o débil, ya que un error puede ocasionar reacciones transfusionales fatales (AABB, 2000).

### **12.3.3 Coombs directo**

Es una prueba pretransfusional donde se detecta anticuerpos ya unidos a la superficie de los glóbulos rojos.

### **12.3.4 Coombs indirecta**

Detecta anticuerpos libres que pueden reaccionar in vivo con glóbulos rojos que tienen antígenos específicos. (Barbolla.L, 2008)

### **12.3.5 Rastreo de Anticuerpos Irregulares:**

Esta prueba se lleva a cabo luego de la determinación del grupo ABO, factor Rh, Coombs directo, el objetivo del rastreo de anticuerpos permite detectar la presencia en el suero del receptor de anticuerpos irregulares dirigidos contra los eritrocitos del donante (AABB, 2000). Generalmente este tipo de anticuerpos está presente en personas que han recibido derivados sanguíneos o en caso de mujeres que se han inmunizado durante el embarazo.

Para la determinación de anticuerpos irregulares se utilizan células (eritrocitos) de antígenos conocidos, estas pueden adquirirse comercialmente, en este caso se usaron células de la casa comercial VITRO. (Tabla N°2)

**Tabla N° 2: Ejemplo de células utilizadas en la determinación de aloanticuerpos.**

		Rh					Kell					Duffy		Kidd		Lewis		P	MNS				Luth		Hg		
		D	C	E	c	e	C <sub>cr</sub>	K	k	K <sub>pa</sub>	K <sub>pb</sub>	J <sub>sa</sub>	J <sub>sb</sub>	F <sub>ya</sub>	F <sub>yb</sub>	J <sub>ka</sub>	J <sub>kb</sub>		Le <sub>a</sub>	Le <sub>b</sub>	M	N	S	s		L <sub>usa</sub>	L <sub>ub</sub>
I	CCDee	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0
II	ccDEE	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	+	+	0	0	+	+	+	+	+	
III	ccdee	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	+	+	+	0	+	0	+	+	+	+	0	0	+	+	+	

Fuente:(Barbolla.L, 2008).

Los resultados obtenidos en las tres células son indicativos de los posibles anticuerpos presentes en el plasma del paciente; así por ejemplo si tenemos aglutinación únicamente en las células I y II existe una alta probabilidad de que se trate de un anti-D o anti-Jkb.

Una vez obtenidos los resultados en estas células se comprueba la presencia del aloanticuerpo, para ello se requieren células denominadas “panel” que vienen enumeradas del 1-11 y cada una tiene antígenos específicos. (Tabla N°3)

**Tabla N° 3. Ejemplo de células “panel”**

cells	Rh-hr					Kell		Kidd		Duffy		Lewis		MNSs				P <sub>1</sub>	37°C	(Anti-IgG) AHG		
	D	C	E	c	e	K	k	Jk <sup>a</sup>	Jk <sup>b</sup>	Fy <sup>a</sup>	Fy <sup>b</sup>	Le <sup>a</sup>	Le <sup>b</sup>	M	N	S	s					
1	+	+	0	0	+	0	+	+	0	0	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	0	0
2	+	+	0	0	+	+	+	0	+	+	0	+	+	+	0	+	+	+	+	+	3+	3+
3	+	0	+	+	0	0	+	+	0	+	+	+	0	0	+	+	+	+	0	+	3+	3+
4	+	0	+	+	0	0	+	0	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	+	+	3+	3+
5	+	0	+	+	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	3+	3+
6	0	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	0	0	0	3+	3+
7	0	0	0	+	+	+	+	+	0	+	0	0	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0
8	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	0	0
9	+	0	0	+	+	0	+	+	+	0	+	0	0	+	0	0	+	+	+	+	3+	3+
10	+	0	0	+	+	0	+	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	+	0	+	3+	3+

Fuente: Inserto, ID-Card

Luego de enfrentar el plasma del paciente a cada una de las células del panel se observa la presencia de aglutinación, identificando su presencia o ausencia como una prueba positiva o negativa respectivamente para determinada célula. Cuando se obtiene un resultado negativo lo que muestra es que en ese momento el plasma/suero del receptor no se detectan anticuerpos contra los antígenos de las células de ese panel (AABB, 2000). Frente a un resultado positivo nos confirma la especificidad del anticuerpo y esto es informativo para evitar una reacción postransfusional, pues se tratara de buscar un derivado sanguíneo que carezca de ese antígeno.

Sin embargo, no siempre es fácil determinar la presencia de aloanticuerpos especialmente en pacientes que presentan más de dos anticuerpos o auto-anticuerpos a la vez en ese caso se debe analizar los resultados; así:

- 1) Siempre se debe realizar la prueba de autocontrol (suero del paciente más células del paciente) si este es positivo se tratará de un autoanticuerpo. (Muñoz-Díaz, 2012)
- 2) Si se presenta una reactividad en todas las células del panel y el autocontrol es negativo existe la gran probabilidad de que existan dos aloanticuerpos, a estos se los conoce como “paraglutinación” (Muñoz-Díaz, 2012)
- 3) Si existe diferente reactividad durante las fases de salina y Coombs puede tratarse de la suma de aloanticuerpos fríos y calientes.
- 4) Para determinar la especificidad del aloanticuerpo se deben realizar otras pruebas como elución y/o autoabsorción.

### **12.3.6 Elución:**

Esta prueba es muy útil para diferenciar entre la presencia de un autoanticuerpo o la acción de un fármaco. El eluido permite confirmar la presencia de anticuerpos de tipo IgG adheridos a la membrana de los eritrocitos (AABB, 2000).

Para conocer la diferencia se espera la siguiente reacción:

- Si es negativo el eluido y positivo el Coombs directo es indicativo de la acción de un fármaco.
- Por el contrario si el eluido es positivo en todas las células del panel es indicativo de un autoanticuerpo.

- Cuando el autocontrol es negativo y existe en el eluído la presencia de un aloanticuerpo es indicativo de una reacción postransfusional tardía (Engelfriet CP, 2000).

### 12.3.7 Autoabsorción:

Este tipo de técnica se utiliza para absorber el autoanticuerpo del suero del receptor utilizando sus propias células a 37°C, una vez eliminado el autoanticuerpo se enfrenta a las células del panel y de esa manera se analiza que tipo de aloanticuerpo está presente (AABB, 2000).

### 12.3.8 Comparación entre Coombs Directo e Indirecto:

También resulta útil la comparación entre estas dos pruebas para orientar los resultados, así ante la presencia de autoanticuerpos la intensidad de aglutinación del Coombs directo (CD) es mayor que la del Coombs Indirecto (CI), lo contrario ocurre cuando existen aloanticuerpos.

	Relación de intensidad de pruebas	Escala en Cruces de positividad
<b>Aloanticuerpo</b>	CD > CI	CD: (+++) CI: (+)
<b>Auto anticuerpo</b>	CD < CI	CD: (+) CI: (+++)

## CAPITULO III

### MARCO METODOLÓGICO

#### 13. MATERIALES Y METODOS.

##### 13.1 Tipo de estudio

Es un estudio descriptivo transversal llevado a cabo en la ciudad de Quito en dos centros de salud que atienden a pacientes con patologías como leucemia, anemia, síndrome de Evans etc., y que requieren transfusiones de concentrados de glóbulos rojos en forma frecuente.

##### 13.2 Tipo de muestreo

Se empleará un muestreo aleatorio estratificado.

##### 13.3 Tamaño de muestra

Se utilizó la siguiente fórmula con un grado de confianza del 95% y un error alfa del 5%

$$n = \frac{z_{\alpha}^2 \times p \times q}{d^2}$$

$$n = \frac{1,96^2 \times 0,05 \times 0,95}{0,03^2} = 203$$

*Dónde:*

*n= tamaño de la muestra*

*p= proporción esperada*

*q= 1-p*

*d= precisión del estudio 0,3% (3%).*

*Decisión:* al no conocer con exactitud la prevalencia de patología multitransfundidos debido al subregistro que existe y la escasa información proporcionada en el Ministerio de Salud Pública, Baca Ortiz y Cruz Vital se asumió una proporción esperada del 0,5. Obteniéndose con un grado de confianza del 95% y un error alfa del 0,5 un total de 203 muestras de pacientes en cada servicio de sangre.

#### **13.4 Consentimiento Informado:**

A todos los pacientes se solicitó el consentimiento para la toma de muestras; el formulario utilizado fue el proporcionado por el Ministerio de Salud Pública el cual fue aprobado por el comité de bioética de los servicios que fueron parte del estudio (Anexo 1).

***Criterios de Inclusión:*** Todos los pacientes que hayan recibido más de una pinta de sangre por problemas hematológicos.

***Criterios de Exclusión:*** Los pacientes que han recibido transfusiones sanguíneas por diferentes causas no relacionadas con problemas hematológicos.

#### **13.5 Operacionalización de las variables**

***Variables independientes:*** Tipo de Aloanticuerpo, frecuencia, edad, derivados sanguíneos, género.

***Variable independiente:*** Pacientes hematológicos multitransfundidos.

## Operacionalización de las Variables:

**Objetivo General:** Establecer la frecuencia y el tipo de aloanticuerpos presentes en el suero de los pacientes multitransfundidos hematológicos.

VARIABLES INDEPENDIENTES	DEFINICIÓN	DIMENSIONES	INDICADORES	INSTRUMENTO DE MEDIDA/ MEDIOS DE VERIFICACIÓN
Tipo de aloanticuerpos	Anticuerpos producidos por el contacto con antígenos ajenos como respuesta inmune.	Cualitativa	Tipo de aloanticuerpos / Total de aloanticuerpos identificados.	Pruebas de laboratorio. Análisis de los resultados. Reporte de resultados
Frecuencia	Es una magnitud que mide el número de repeticiones por unidad de tiempo de cualquier fenómeno o suceso periódico.	Cuantitativa	Frecuencia de pacientes con aloanticuerpos/ Total de pacientes analizados	Análisis estadísticos en SPSS V.20
Edad	Tiempo cronológico transcurrido desde el nacimiento	Cuantitativa	Años cumplidos hasta el momento de la toma de muestra	Cédula de identidad Partida de nacimiento
Derivados sanguíneos	Productos sanguíneos obtenidos de donaciones de sangre	Cuantitativo	Número y tipo de derivados sanguíneos utilizados en cada paciente	Análisis de los datos
Género	Denominación que diferencia a hombre y/o mujer	Cualitativo	Total de hombres/Total de pacientes analizados Total de mujeres/Total de pacientes analizados	Análisis de datos
<b>VARIABLE DEPENDIENTE</b>				
Pacientes multitransfundidos hematológicos	Pacientes que presentan patologías hematológicas y que reciben transfusiones de derivados sanguíneos	Cuantitativa y cualitativa	Número de pacientes con patologías hematológicas específicas/ Total de pacientes	Encuesta estructurada Análisis de resultados

### **13.6 Control de calidad**

Los reactivos utilizados para la tipificación sanguínea ABO y factor D fueron sometidos a control de calidad tomando en consideración las características de avidéz, afinidad, potencia y especificidad utilizando muestras de sangre de grupos sanguíneos conocidos y de acuerdo al protocolo propuesto por la AABB y Dra. Franco.

Para la confirmación de la funcionabilidad de las pruebas de Coombs se preparó el control del mismo utilizando una muestra de sangre Rh (pos) y siguiendo el protocolo establecido en el Manual de AABB.(AABB, 2000).

Para la metodología en gel, se inspeccionó la integridad de este en cada una de las tarjetas mediante centrifugación previa a la realización de las pruebas. El gel debe estar intacto sin burbujas, ni cambio de color ni signos de evaporación (Inserto Vitros).

Para la realización de las pruebas se utilizó en cada tarjeta de gel células control de Coombs obtenidas en la casa comercial VITROS o preparada en el CIEI siguiendo el protocolo del Manual AABB 2000. (Anexo 6).

### **13.7 Procedimiento de elección de muestras**

Luego de la aceptación de los pacientes mediante la firma del consentimiento se tomaron las muestras de sangre tanto en tubo con anticoagulante EDTA con una relación 1:10 y sin anticoagulante mínimo 3ml. El primer tubo fue utilizado para la determinación de grupo sanguíneo, fenotipos del sistema Rh y el plasma para el escrutinio de anticuerpos. Los sueros fueron congelados a  $-70^{\circ}\text{C}$  y fueron utilizados en caso de que se obtengan resultados que sugieran la presencia de autoanticuerpos.

Sueros y/o plasmas con hemólisis y lipémicos no fueron utilizados de acuerdo a las recomendaciones de Approved Estándar-Procedures for the handling and processing of blood specimens, H18A3.

### **13.8 Pruebas en Gel**

**Fundamento:** las pruebas de gel sirven para la detección de aloanticuerpos presentes en pacientes multitransfundidos, en este estudio se utilizaron tarjetas denominadas ID-Card “LISS/Coombs” para prueba indirecta y directa de antiglobulina (identificación del producto:

50531). Estas tarjetas son utilizadas tanto para la detección de aloanticuerpos como pruebas de compatibilidad y prueba de antiglobulina (DAT) (Inserto, ID-Card).

El objetivo de estas tarjetas es identificar la presencia de las inmunoglobulinas IgG debido a que los microtubos de la ID-Card contiene antiglobulina humana poliespecífica (anti-Ig y Anti-C3b AGH). La manipulación de la tarjeta es mínima, se agrega cantidades establecidas de suero del paciente y de células panel mediante el uso de pipetas automáticas de repetición múltiple, evitándose de esa manera la manipulación excesiva de las muestras y los reactivos (AABB 2009). Un espacio en la porción superior de la columna es utilizada para colocar las células o el suero, seguidamente son centrifugados permitiendo así separar los eritrocitos aglutinados de los no aglutinados, un resultado negativo se determina por el paso de eritrocitos al fondo de la columna, en cambio los que han sido aglutinados permanecen en la superficie, siendo este el fundamento de las pruebas en gel, la separación por tamaño de las partículas (AABB, 2009).

#### **13.8.1 Control de calidad panel de células:**

No existe un control interno que asegure la actividad de todos los antígenos presentes en las células, sin embargo se recomienda utilizar un anticuerpo débil que sea detectado durante la realización de las pruebas, en este caso se utilizó un anti-D diluido 1/16 (AABB, 2000).

#### **13.8.2 Control de células Coombs:**

Este control es utilizado para determinar la presencia de la antiglobulina humana IgG en los microtubos de las ID-Card, durante el estudio se colocó al final de cada gel este reactivo comprobándose de esta manera la actividad del reactivo.

Para la preparación del control de Coombs se utilizó sangre O Rh positivo lavada tres veces e incubada con reactivo anti-D monoclonal por 15 minutos, luego de la incubación se lavó y se preparó una dilución al 3% la que fue utilizada por un lapso de una semana.

#### **13.8.3 Panel de Células:**

Se utilizó el Panel de BIO-RAD

Set ID-DiaPanel 4516174

Lote: 06171.74

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
C <sup>w</sup> CD.ee	CCD.ee	ccD.EE	Ccddee	ccddEe	ccddee	ccddee	ccD.ee	ccddee	ccddee	ccddee
R <sub>1</sub> <sup>w</sup> R <sub>1</sub>	R <sub>1</sub> R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub> R <sub>2</sub>	r'r	r''r	Rr	rr	R <sub>0</sub> r	rr	rr	rr
521863	972118	141466	2915534	857269	674147	137567	574480	927191	674384	477343

*Fecha de caducidad: 2012.06.04*

**Fuente: AABB, 2000**

### 13.8.4 Lectura de las pruebas:

Para la lectura de resultados se utilizaron las cartillas incluidas en el reactivo, no se mezclaron cartillas por la diferencia de células utilizadas. (Anexo 2)

### 13.8.5 Anti-sueros anti-A; anti-B; anti-AB; anti-D:

Se adquirieron antisueros de la casa comercial LAB-KID, Lote: 741001 E, fecha de caducidad 02-2015, monoclonales de 10 ml y se realizaron pruebas de avidéz, especificidad y titulación. (Anexo 3)

**Avidéz:** se utilizaron sangre de grupo sanguíneo conocido: A1, A2, AB, B, O y un cronómetro, se probaron cada uno de los reactivos con sus respectivas células (antígenos) y se tomó el tiempo de reacción comparándolo con los establecidos en el Manual de la AABB.

**Especificidad:** para medir este parámetro se enfrentaron los reactivos a los diferentes tipos de células y se determinó si existían reacciones cruzadas de acuerdo a las bases inmunológicas de reacción del anticuerpo con su antígeno específico. (AABB, 2000).

**Titulación:** mediante este parámetro se estableció la concentración del anticuerpo específico de cada reactivo para el antígeno eritrocítico en particular, el cálculo se basó en determinar en qué dilución seriada del reactivo no se observa uniones (aglutinación). La titulación permitió medir la capacidad de los anticuerpos del reactivo para reaccionar con las células sanguíneas. Los valores se determinaron de acuerdo a la siguiente tabla:

**Tabla N° 4 Descripción de antisueros.**

<i>Antisuero/Reactivo</i>	<i>Células/Eritrocitos</i>	<i>Título Mínimo</i>	<i>Tiempo de inicio de aglutinación/seg</i>
<i>Anti-A</i>	<i>A1</i>	<i>256</i>	<i>15</i>
	<i>A2</i>	<i>128</i>	<i>20</i>
	<i>A1B</i>	<i>128</i>	<i>15</i>
	<i>A2B</i>	<i>8</i>	<i>30</i>
<i>Anti-B</i>	<i>B</i>	<i>256</i>	<i>15</i>
	<i>A1B</i>	<i>64</i>	<i>15</i>
	<i>A2B</i>	<i>128</i>	<i>15</i>
<i>Anti-AB</i>	<i>A1</i>	<i>256</i>	<i>15</i>
	<i>A2</i>	<i>64</i>	<i>20</i>
	<i>B</i>	<i>256</i>	<i>15</i>
<i>Anti-D</i>	<i>R1R2 CDE/CDE</i>	<i>64</i>	<i>20</i>
	<i>R1r CDE/cde</i>	<i>64</i>	<i>20</i>

**Fuente: AABB, 2000.**

### **13.8.6 Fenotipificación Rh:**

Se utilizó el reactivo de la casa comercial LABKIT, Lote 740133A2E, fecha de expiración 2015-01. La técnica utilizada fue en tubo manual. Y se probaron con células R<sup>1</sup>/r; R<sup>0</sup>/r'. (Anexo 3)

### **13.8.7 Antisueros anti-C; anti-c; anti-E; anti-e:**

Los reactivos utilizados fueron de la casa comercial BIO-RAD, lote B700014, fecha de caducidad 02.12:

- 1) DiaClon Anti-C (línea celular MS-24)
- 2) DiaClon Anti-E (línea celular MS-260)
- 3) DiaClon Anti-c (línea celular MS-33)
- 4) DiaClon Anti-e (líneas celulares MS-16, MS-21, MS-63)

### **13.8.8 Control Coombs:**

Se adquirió células control Coombs para el sistema de gel, para las pruebas manuales se preparó el control de Coombs utilizando células grupo O Rh (+)(AABB, 2000).

## CAPITULO IV

### 14. MARCO CONCEPTUAL

**Anemia:** Es una patología considerada como la deficiencia de glóbulos rojos o hemoglobina. (The University of Chicago Medicine Comer Children's Hospital: For Medical Professionals, 2012)

**Leucemia:** Es un tipo de cáncer que afecta a las células sanguíneas, se caracteriza por presentar células diferentes a las normales. (The University of Chicago Medicine Comer Children's Hospital: For Medical Professionals, 2012)

**Paciente Hematológicos:** Constituye en grupo de personas que presentan alteraciones patológicas en células como plaquetas, leucocitos y eritrocitos. (Mas, 2002)

**Sangre total:** Es un tejido compuesto de elementos celulares como globulos rojos, blancos, plaquetas y suspendido en un líquido denominado plasma. (The University of Chicago Medicine Comer Children's Hospital: For Medical Professionals, 2012)

**Concentrado de glóbulos rojos:** Es un producto que se obtiene de la centrifugación y separación del plasma de la sangre total. (AABB, 2000).

**Derivados sanguíneos:** Son productos obtenidos de las sangre total donada a través de medios mecánicos como centrifugación, temperatura de almacenaje y eliminación de otros componentes de la sangre como: concentrado de glóbulos rojos; plaquetas; sangre sin leucocitos. (The University of Chicago Medicine Comer Children's Hospital: For Medical Professionals, 2012)

**Inmunización:** Se produce en la administración natural o artificial de un antígeno que ocasiona una respuesta inmune, especialmente cuando se busca la protección del receptor. (Sepúlveda, 2009).

**Anticuerpo:** Es una molécula de inmunoglobulina producida durante una respuesta inmune o de forma natural por los plasmocitos activados durante la respuesta a un antígeno extracelular y que tiene la propiedad de unirse específicamente con la partícula o antígeno que dio lugar a su producción. (AABB, 2009)

**Anticuerpo natural:** Producido de forma natural y presente en el suero, ejemplo anticuerpos del sistema ABO. (AABB, 2009)

**Autoanticuerpos:** Son anticuerpos que reaccionan con los antígenos propios, su demostración in vitro se realiza al enfrentar el suero del paciente con sus antígenos. (AABB,2000)

**Alloanticuerpo:** Son anticuerpos producidos al contacto con antígenos extraños este fenómeno; ocurre especialmente en pacientes que reciben transfusiones de cualquier derivado sanguíneo en forma continua y por largo tiempo. (González, 2007)

**IgG:** Es un tipo de inmunoglobulina (anticuerpo) que pesa aproximadamente 150 KDa con capacidad de fijar el complemento atravesar la placenta y provocar reacciones hemolíticas (AABB, 2000).

**Reacción adversa:** Es un resultado inesperado y dañino que ocurre en un paciente luego de la administración de un tratamiento, este resultado puede ser leve o grave e incluso puede acabar con la vida del paciente. (McClelland DBL, 2010)

**Reacción a la transfusión:** Cualquier signo o síntoma que ocurra luego de que el paciente recibió un derivado sanguíneo. (McClelland DBL, 2010)

**Reacción alérgica:** Constituye la aparición de erupción cutánea, prurito generalizado, sin hipotensión durante las primeras 24 horas de haber recibido un producto sanguíneo. (McClelland DBL, 2010).

**Reacción transfusional hemolítica:** Constituye la presencia de signos y síntomas de hemorragia ocasionada por la producción de anticuerpos contra antígenos de las células rojas. (McClelland DBL, 2010).

**Transfusión:** Es una forma de tratamiento que es utilizada para recuperar el transporte de oxígeno a través del uso de derivados sanguíneos donados por otras personas. (McClelland DBL, 2010).

## CAPITULO V

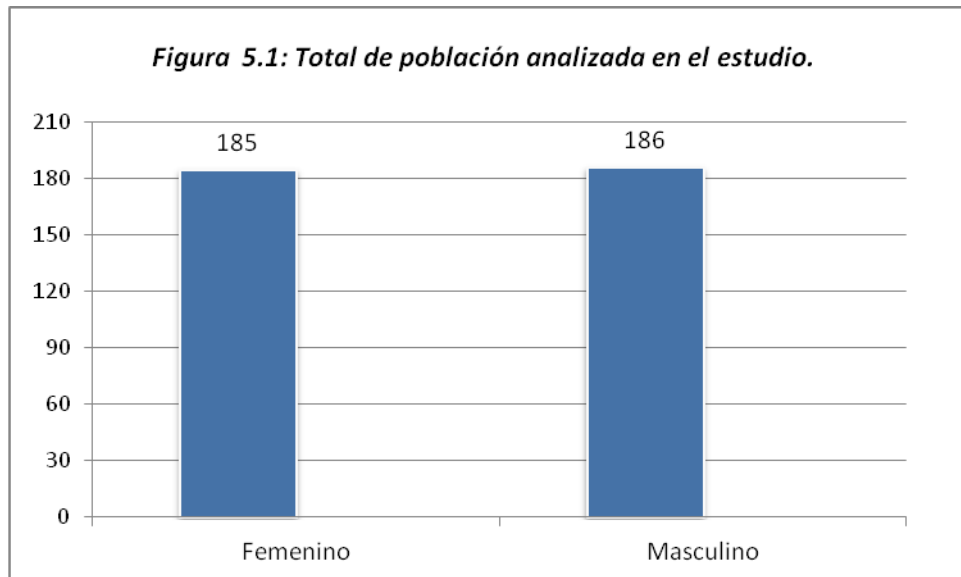
### 15. RESULTADOS.

Se analizó un total de 371 pacientes provenientes de dos centros de salud el país. De los cuales el 50% fueron hombres. (Tabla 5.1) (Figura 5.1).

**Tabla N° 5. Población Analizada**

	<i>Frecuencia</i>	<i>Porcentaje</i>
Femenino	185	49.9
Masculino	186	50.1
Total	371	100.0

*Se analizó un 50% de mujeres y 49,9% de hombres.*



*La figura muestra la frecuencia de mujeres y hombres captados en el estudio.*

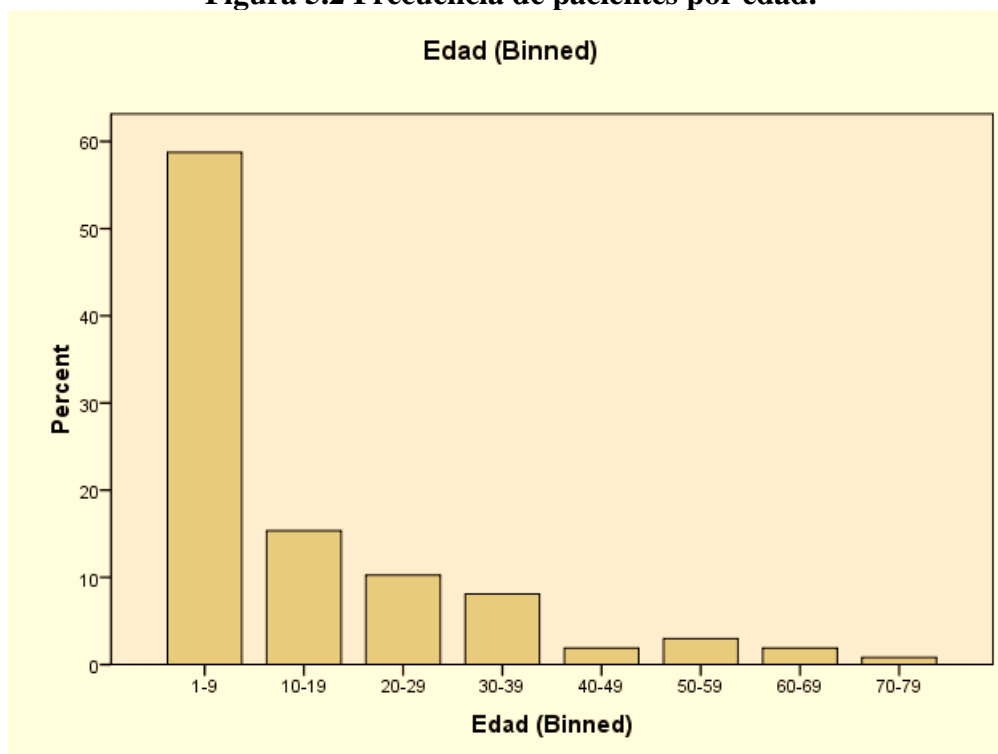
De los análisis realizados se estableció que las edades de los pacientes fluctuaban entre 8 y 70 años, de los cuales el 58% fueron niños con patologías hematológicas que requerían transfusiones frecuentes. (Tabla 5.1) (Figura 5.2).

**Tabla N° 5.1 Distribución de la Población de acuerdo a la edad.**

<i>Edad</i>	<i>Frecuencia</i>	<i>Porcentaje</i>
1-9	218	58.8
10-19	57	15.4
20-29	38	10.2
30-39	30	8.1
40-49	7	1.9
50-59	11	3.0
60-69	7	1.9
70-79	3	0.8
Total	371	100.0

*La tabla muestra la distribución etarea siendo los niños el mayor porcentaje 58,8%, el 15,4% entre 10-14años y 10,2% entre 20-29.*

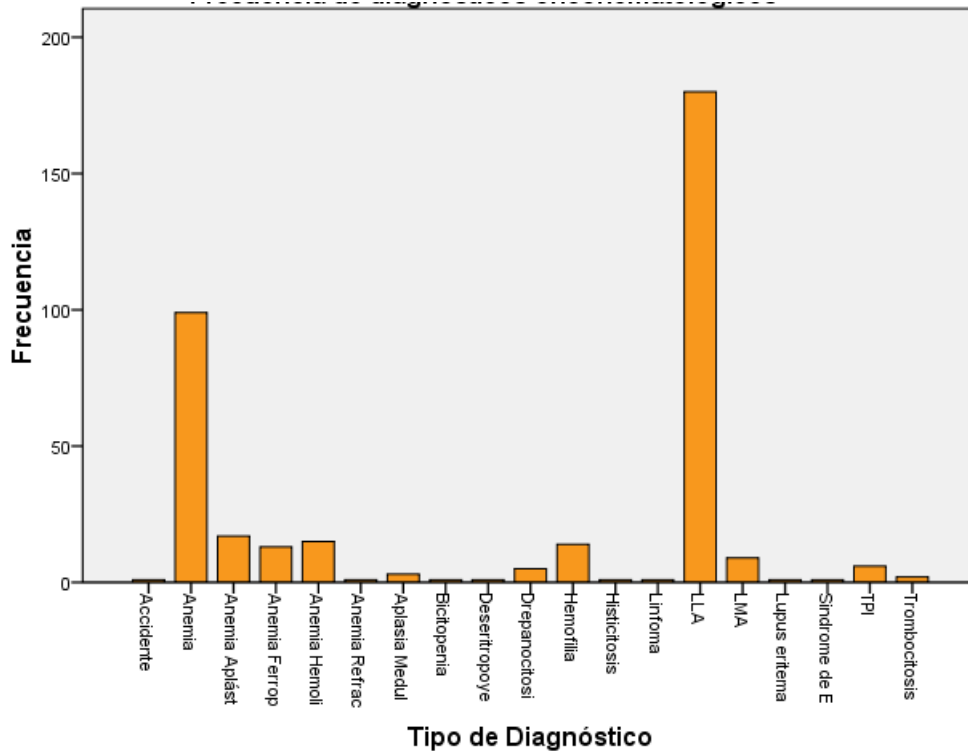
**Figura 5.2 Frecuencia de pacientes por edad.**



*El gráfico muestra la distribución por grupos de edades de la población estudiada*

De los pacientes que aceptaron participar en el estudio presentaban un total de 18 patologías que requerían dentro de su tratamiento transfusiones de derivados sanguíneos incluyendo paquetes globulares (Figura N 5.3)

**Figura N° 5.3 Principales patologías.**



*Los pacientes con diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda son los que mayormente acudieron al estudio por requerir mayor número de transfusiones. Dentro de la clasificación se incluyen pacientes hemofílicos que a pesar de pertenecer a trastornos de la coagulación dentro de los centros de salud en los que se realizó el estudio son considerados como pacientes hematológicos multitransfundidos (Cevallos, 2013).*

Se estableció que los aloanticuerpos no se encuentran relacionados con la edad, pudiendo estar presentes en diferentes grupos de edad, sin embargo mantienen una relación con el número de transfusiones ( $p= 0,047$ ), encontrándose una frecuencia del 4,3%. También se determinó la presencia de dos anticuerpos en 4 pacientes (Tabla N 5.2 y 5.3)

**Tabla N° 5.2 Presencia de aloanticuerpos de acuerdo a la edad.**

		1-9	10-19	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79	
Aloanticuerpos	<i>anti- c</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	1
	<i>anti- e</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	1
	<i>anti- Jk<sup>a</sup></i>	0	0	1	0	0	0	0	0	1
	<i>anti- S</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	1
	<i>Anti-E/ Anti-K</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	1
	<i>anti-k</i>	0	1	0	0	0	0	0	0	1
	<i>anti-k / anti-kpb</i>	2	0	1	0	0	0	0	0	3
	<i>Kell Kp<sup>a</sup></i>	0	0	0	1	0	0	0	0	1
	<i>Lea /Fy<sup>a</sup></i>	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	<i>Lutheran Lu<sup>a</sup></i>	0	1	0	0	0	0	0	0	1
	<i>Lutheran Lu<sup>b</sup></i>	0	1	0	1	0	1	0	0	3
<i>PI / Le<sup>a</sup></i>	1	0	0	0	0	0	0	0	1	
<b>Total</b>		<b>4</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>16</b>

Tabla muestra la presencia de más de un aloanticuerpos en cuatro pacientes

**Tabla N° 5.3 Relación entre anticuerpos y número de transfusiones.**

	Número de Transfusiones			Total
	1-5	>5	>10	
Aloanticuerpos Positivo	5	7	4	16
<i>% of Total</i>	1.3%	1.9%	1.1%	4.3%
Negativo	219	83	53	355
<i>% of Total</i>	59.0%	22.4%	14.3%	95.7%
<b>Total</b>	<b>224</b>	<b>90</b>	<b>57</b>	<b>371</b>
<i>% of Total</i>	<b>60.4%</b>	<b>24.3%</b>	<b>15.4%</b>	<b>100.0%</b>

La frecuencia de aloanticuerpos está relacionada con el número de transfusiones.

**Tabla N° 5.4 Análisis del Chi-cuadrado.**

		Aloanticuerpos
Edad	Pearson Correlation	-.105*
	Sig. (2-tailed)	.043
Número de Transfusiones	Pearson Correlation	.047
	Sig. (2-tailed)	.040

*El análisis del chi-cuadrado se establece la correlación entre el número de transfusiones y la presencia de aloanticuerpos  $p=0.047$*

Con los valores obtenidos y sabiendo que si  $p < 0,05$  se acepta la hipótesis alterna caso contrario se rechaza, para esta investigación  $p=0,047$ , por lo tanto cumple la condición y se dice:  $p < 0,05$  se acepta la hipótesis alterna que dice: H1: Todos los pacientes multitransfundidos desarrollan anticuerpos irregulares. En otras palabras los resultados indican que la cantidad de anticuerpos tiene relación con el número de transfusiones.

Adicionalmente, se correlacionó con la edad encontrándose un  $p > 0,005$  con lo que se concluye que no hay relación entre estos dos parámetros.

Se identificaron la presencia de 16 anticuerpos irregulares correspondientes al sistema Rh, MNS, Kell, Duffy, Lutheran, Lewis y P, lo que corresponde al 4,3% de prevalencia (Tabla 5.5).

**Tabla N° 5.5 Identificación de anticuerpos irregulares.**

<b>Tipo de Aloanticuerpos</b>	<b>Frecuencia</b>
anti- c	1
anti- e	1
anti- Jk <sup>a</sup>	1
anti- S	1
anti-E/ anti-K	1
anti-k	1
anti-k / anti-kp <sup>b</sup>	3
anti-Kp <sup>a</sup>	1
anti-Lea /anti-Fy <sup>a</sup>	1
anti-Lutheran Lu <sup>a</sup>	1
anti-Lutheran Lu <sup>b</sup>	3
anti-P1 / anti-Le <sup>a</sup>	1
<b>Total</b>	<b>16 / 4,3%</b>

*La Tabla muestra el tipo de aloanticuerpo presente en los pacientes analizados*

Al correlacionar el diagnóstico con el número de transfusiones y la presencia de aloanticuerpos se determinó que los pacientes con Leucemia Linfocítica Aguda presentan el 56,2% (9) diferentes tipos de anticuerpos irregulares, por lo tanto la aloinmunización también este determinada con la patología pues de ella dependerá la frecuencia y número de transfusiones recibidas (Tabla N 5.6 y 5.7)

<b>Tabla N° 5.6 Número de transfusiones de acuerdo al diagnóstico.</b>					
<b>Diagnóstico</b>		<b>Número de Transfusiones</b>			<b>Total</b>
		<b>1-5</b>	<b>&gt;5</b>	<b>&gt;10</b>	
	<i>Accidente</i>	1	0	0	1
	<i>Anemia</i>	71	19	11	101
	<i>Anemia Aplástica</i>	6	8	3	17
	<i>Anemia Ferropénica</i>	8	1	1	14
	<i>Anemia Hemolítica</i>	8	6	2	16
	<i>Anemia Refractaria</i>	1	0	0	1
	<i>Aplasia Medular</i>	2	1	0	3
	<i>Des-eritropoyesis</i>	0	0	1	1
	<i>Drepanocitosis</i>	4	0	1	5
	<i>Hemofilia</i>	11	1	0	12
	<i>Linfoma</i>	0	0	1	1
	<i>LLA</i>	101	46	33	180
	<i>LMA</i>	4	3	2	9
	<i>Lupus eritema</i>	0	0	1	1
	<i>Síndrome de Evans</i>	0	0	1	1
	<i>TPI</i>	5	1	0	6
	<i>Trombocitosis</i>	0	0	2	2
	<b>Total</b>	<b>224</b>	<b>90</b>	<b>57</b>	<b>371</b>

*Tabla muestra las diferentes patologías de los pacientes participantes en el estudio y relación con el número de transfusiones, existen 12 pacientes hemofílicos quienes recibieron transfusiones sanguíneas.*

**Tabla N° 5.7 Presencia de Aloanticuerpos de acuerdo al diagnóstico.**

		Aloanticuerpos	
		Positivo	Total
<b>Diagnóstico</b>	<b>Anemia</b>	3 18.8%	3 18.8%
	<b>Anemia Aplástica</b>	1 6.2%	1 6.2%
	<b>Anemia Hemolítica</b>	2 12.5%	2 12.5%
	<b>LLA</b>	9 56.2%	9 56.2%
	<b>Síndrome de Evans</b>	1 6.2%	1 6.2%
<b>Total</b>		<b>16</b> <b>100.0%</b>	<b>16</b> <b>100.0%</b>

*Tabla muestra que los pacientes con diagnóstico de LLA presentan el 56,2% de anticuerpos irregulares  $p=0,042$ , lo que sustenta la hipótesis alterna.*

Al analizar la presencia de los dos tipos de aloanticuerpos con la edad, género, patología y número de transfusiones se determinó que 3 pacientes recibieron 11 transfusiones, 2 niños recibieron ocho transfusiones y 1 niño 5 transfusiones. También llama la atención la presencia del aloanticuerpos del sistema Kell en 4 de los pacientes; así como también el diagnóstico común fue la leucemia linfocítica aguda. En cuanto al género el predominante fue el femenino.

**Tabla N°5.8 Presencia de Doble aloanticuerpos de acuerdo a la patología, número de transfusiones y edad.**

Edad	Género	Patología	Número de Transfusiones	Anticuerpos
67	F	LLA	11	Anti-E/ Anti-K
54	F	Síndrome de Evans	11	Le a /Fy <sup>a</sup>
8	M	LLA	5	P1 / Le <sup>a</sup>
28	F	Anemia	11	anti-k / kp <sup>b</sup>
7	M	LLA	8	anti-k / kp <sup>b</sup>
9	F	LLA	8	anti-k / kp <sup>b</sup>

*La tabla muestra las variables que acompañan la presencia de dos tipos de aloanticuerpos en un paciente, dentro de la distribución se encuentran tres niños con LLA.*

## 15.1 Control de Calidad

### Antisueros Anti-A, Anti-B, Anti-AB, Anti-D

**Tabla N° 5.9 Resultados de Control de Calidad**

<i>Anti-A</i>	<i>Avidez</i>	<i>Afinidad</i>	<i>Especificidad</i>
<i>Células A1</i>	15''	1/256	(++++)
<i>Células A2</i>	20''	1/32	(+++)
<i>Células AB</i>	20''	1/128	(++++)
<i>Células O</i>	-	-	(-)
<i>Anti-B</i>			
<i>Células B</i>	15''	1/256	(++++)
<i>Células A</i>	-	-	(-)
<i>Células A2</i>	-	-	(-)
<i>Anti-AB</i>			
<i>Células A1</i>	15''	1/128	(++++)
<i>Células A2</i>	25''	1/64	(++++)
<i>Células AB</i>	20''	1/256	(++++)
<i>Células O</i>	-	-	(-)
<i>Anti-D</i>			
<i>Rh (positivo)</i>	20''	1/64	(++++)
<i>R1/r</i>	22''	1/64	(+++)

*Tabla muestra los resultados del control de calidad realizado en los reactivos utilizados en el estudio.*

## **16. CONCLUSIONES:**

- La población analizada fue mayormente niños en un 58% por ser la población que acude mayormente a uno de los centros de salud.
- Dentro de las patologías estudiadas se determinó que el 56,2% de los pacientes con leucemia linfoblástica desarrollaron la presencia de aloanticuerpos. Dentro de estos pacientes existió la presencia de dos diferentes tipos de anticuerpos irregulares (1,02%).
- El análisis de datos reveló una prevalencia del 4,3% de aloanticuerpos en pacientes con patología hematológicas menor al reportado en la literatura a nivel de pacientes multitransfundidos.
- Se determinó la presencia de 16 tipos diferentes de aloanticuerpos en los pacientes incluidos en el estudio.
- Al igual que en otros estudios publicados se encontró que la presencia de aloanticuerpos está directamente relacionado con el número de transfusiones ( $p < 0,05$ ) no así con la edad del paciente.
- Los anticuerpos irregulares detectados pertenecían al sistema Rh, Kell, Kidd y Lutheran.
- Dentro de los aloanticuerpos identificados se detectaron la presencia de anticuerpos poco frecuentes como el anti-JKa y anti-Kpa considerados en la literatura como los más problemáticos y poco frecuentes por disminuir rápidamente sus niveles en el suero y ocasionar reacciones postransfusionales hemolíticas tardías.
- Dentro de los aloanticuerpos identificados predominaron los relacionados con el sistema Rh, MNS, Duffy, Kidd, Lewis, Lutheran y Kell.

## **17. RECOMENDACIONES:**

- Se recomienda que se continúe con la identificación de aloanticuerpos en pacientes hematológicos y que requieren de transfusiones frecuentes.
- Se recomienda de manera urgente que a nivel de los servicios de medicina transfusional del país se incluya la fenotipificación extensiva de donantes de sangre que permita establecer antígenos eritrocitarios de alta frecuencia y así seleccionar concentrados eritrocitarios totalmente compatibles.

## 18. DISCUSIÓN

La distribución de la población en este estudio se centró en un 58% a nivel de niños entre 7-12 años de edad debido a la necesidad de determinar la presencia de aloanticuerpos o prevenir su formación, pues constituyen pacientes que reciben dentro de su tratamiento transfusiones sanguíneas de forma frecuente; es común dentro del tratamiento integral a niños con patologías hematológicas el uso de hemoderivados debido a la descompensación por anemia que sufren durante el uso de medicamentos oncológicos y por ende un riesgo mayor a la aloinmunización y reacciones transfusionales tardías (Fasano & Luban, 2008).

La aloinmunización constituye uno de los problemas frecuentes durante la transfusión sanguínea producida luego de exposición a antígenos eritrocitarios alogénicos o ajenos y la estimulación del sistema inmune (Branch, 2012). Se considera que la prevalencia de aloanticuerpos durante la primera transfusión puede ser entre 1-6%, mientras que a nivel de pacientes multitransfundidos puede llegar a ser del 30% (Zalpuri Saurabh, 2012), en este estudio se estableció una prevalencia total de 4,3% distribuida a nivel de pacientes que recibieron de 1-5 transfusiones (1,3%); más de 5 transfusiones (1,9%) y más de 10 transfusiones (1,1%).

Uno de los objetivos primordiales de la transfusión de paquetes globulares constituye el mejorar el transporte de oxígeno (Fasano & Luban, 2008), especialmente en ciertas patologías hematológicas como la anemia (Mejía-Arreguá, 2005); de los pacientes incluidos en el estudio se encontró que un 39,62% presentaban anemia y el 51% leucemias quienes recibieron entre 5 a 10 transfusiones y como consecuencia de ello desarrollaron anticuerpos irregulares, las necesidades transfusionales se debieron a una baja en la concentración de hemoglobina por sangrado (Cevallos, 2012).

De acuerdo a los estándares de Bancos de Sangre de la OMS y del Manual de Criterios Técnicos-Administrativos del MSP Ecuador las muestras del receptor deberán ser tipificadas para el sistema ABO-Rh y anticuerpos irregulares con metodologías que permitan detectar la mayoría de anticuerpos clínicamente significativos (Organización Panamericana de la Salud, 2011); esta práctica no es rutinaria a nivel de los Bancos Sangre del país.

Del análisis de resultados se determinó la presencia de 16 diferentes tipos de anticuerpos en pacientes multitransfundidos comprobándose de esta manera la importancia del escrutinio previo a la transfusión sanguínea. Otro aspecto a considerarse es obtener de forma rápida y oportuna un paquete globular compatible con el fenotipo del paciente, sin embargo en los servicios de medicina transfusional/Bancos de Sangre del país no se realiza la detección del fenotipo extendido a nivel de donantes esto también se debe a la falta de reactivos disponibles en el mercado.

Se encontró la presencia de anticuerpos irregulares relacionados con el sistema Rh (anti-e; anti-c; anti-E); sistema Kell (anti-K; anti-Kpa; anti-Kpb; anti-k); sistema Duffy (anti-Fya); sistema Lewis (anti-Lea); sistema Kidd (Jka); sistema Lutheran (anti-Lua; anti-Lub); anti-P1 y anti-S, lo que es indicativo de exposición previa a los antígenos correspondientes (Zalpurí Saurabh, 2012); la presencia del aloanticuerpo tipo Kpa y Kpb son indicativos de una respuesta hemolítica postransfusional tardía lo que causa serios problemas al receptor y una baja calidad de vida, este tipo de anticuerpos son considerados de baja frecuencia (Sánchez-Girón, Quintanar-García, Alcaraz, Storry, & Mallory, 1999) sin embargo en este estudio se determinó un 16% de Kpb y 6,25% de Kpa.

En la investigación de *Sánchez-Girón and et all*; describe un caso de reacción hemolítica tardía causada por la presencia de anticuerpo Kell y su difícil detección así como el manejo ante un antígeno de alta frecuencia como son los del tipo Kell que representan las dos terceras partes de todos los antígenos identificados fuera de los sistemas de grupo sanguíneo ABO y Rh (Sánchez-Girón, Quintanar-García, Alcatraz, Storry, & Mallory, 1999); al ser considerado un antígeno de alta frecuencia repercute en la disponibilidad de sangre carente de este antígeno, hecho importante para ser tomado en cuenta en el Banco de Sangre. En el país se desconoce la prevalencia de este antígeno y de los otros sistemas eritrocitarios por lo que constituye un estudio emergente ante los resultados obtenidos en esta investigación.

La prevalencia de aloanticuerpos determinada en la investigación fue de 4,3% que es considerada baja de acuerdo a otras publicaciones mundiales en las que se reporta 30% (Branch, 2012); la causa puede deberse a que estos aloanticuerpos se convierten en indetectables en el curso del tiempo (Reverberi, 2008) convirtiéndose este fenómeno en una de las principales causas de reacciones tardías hemolíticas postransfusionales (Reverberi, 2008).

Una de las causas para este fenómeno puede ser la falta de estimulación antigénica por destrucción de las células transfundidas, la edad del paciente así las personas menores de 20 años presentaron anticuerpos no persistentes (Reverberi, 2008); pero sobretodo está relacionado con la “fuerza del anticuerpo” no con su especificidad (Rosee WF, 1990). El término “fuerza” constituye la imposibilidad de reacción con células heterocigotos y muchas veces en los kit disponibles es difícil obtener células homocigotas para este tipo de anticuerpos, otro aspecto relevante constituye el desconocimiento de los fenotipos eritrocitarios a nivel de la población esto convierte en difícil el escogimiento de un panel adecuado de identificación.

Estudios realizados por Rosee et all reportaron un 36% de anticuerpos no persistentes en pacientes con drepanocitosis en un seguimiento por 12 meses (Rosee WF, 1990); con lo que concluyen que los aloanticuerpos eritrocitarios tienden a disminuir sus niveles en el plasma hasta volverse indetectables (Reverberi, 2008). Los anticuerpos anti-Duffy y anti-Kidd tienen efecto dosis o fuerza del anticuerpo por lo que su identificación es difícil pudiendo permanecer indetectables durante el escrutinio de anticuerpos irregulares (Zavala Bonilla, 2005).



Otro aspecto que consideran los autores es la metodología utilizada se requiere métodos sensibles y específicos (Reverberi, 2008) en el presente estudio se utilizaron eritrocitos con genotipo homocigotas y heterocigoto que evitan el efecto dosis y posean todos los antígenos representativos además la tecnología en gel evita la manipulación excesiva de la muestra y permite la lectura objetiva de los resultados.

Dentro de los aloanticuerpos considerados clínicamente significativos se encuentran los del sistema Rh, Kell, Duffy, Kidd y MNS (Zavala Bonilla, 2005) (Torres Padilla, 2008); considerados así por el alto riesgo de producir reacciones hemolíticas postransfusionales. A nivel de los pacientes multitransfundidos de los dos centros de salud del país se encontró la presencia de ese tipo de aloanticuerpos; también se determinó la presencia de anticuerpos Lutheran a y b este último relacionado con hemólisis intravascular (Muñiz & Vega, 2009) por lo que se recomienda la realización del escrutinio de anticuerpos para prevenir reacciones postransfusionales y mejorar la calidad de vida del paciente, de acuerdo a los estudios publicados por Reverberi and et all, Alcaraz López, es importante evitar un nuevo contacto con el antígeno eritrocitario causante de la aloinmunización de esta manera no se activará

nuevamente su producción (Reverberi, 2008) (Alcaraz López, 2005); adicionalmente la persistencia de estos anticuerpos es variable y puede ser de 5 a 10 años, como desaparecer en 12 meses después de su producción (Rosee WF, 1990) (Reverberi, 2008) (Sánchez-Girón, Quintanar-García, Alcaraz, Storry, & Mallory, 1999) todo dependerá del efecto dosis; por lo que es indispensable “no” transfundir sangre con incompatibilidad fenotípica por lo que es necesario realizar una investigación detallada de los sistemas eritrocitarios y de la presencia de anticuerpos en el receptor y contar con sangre con tipificación extendida que contemple los antígenos más comunes en la población. (Alcaraz López, 2005).

## 19. ANEXOS

### Anexo 1: Consentimiento Informado

	<b>Hospital Pediátrico Baca Ortiz</b>	
---	---------------------------------------	--

**(ANEXO 3)**  
**DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Sr./Sra. ...., de .... años de edad y con cédula de identidad n° ....., como representante legal del niño/a ....., manifiesta que ha sido informado/a sobre los beneficios que podría suponer la extracción/toma de sangre o material biológico o procedimiento terapéutico para cubrir los objetivos del Proyecto de Investigación titulado:

“.....” con el fin de mejorar los resultados clínicos de del Hospital Baca Ortiz.

He sido informado/a de los posibles perjuicios que la extracción/toma de sangre o material biológico o tratamiento terapéutico que puede tener sobre mi bienestar y salud.

He sido también informado/a de que mis datos personales serán protegidos e incluidos en un fichero que deberá estar sometido a y con las garantías de la Declaración de Helsinki y Código de Ética Médica del Ecuador.

He sido informado de que el material biológico que cedo será utilizado exclusivamente con finalidad de investigación sin ánimo de lucro, o bien hacerlo constar así en un escrito firmado por el cedente.

Tomando ello en consideración, **doy mi consentimiento** a que esta extracción/toma tenga lugar y sea utilizada para cubrir los objetivos especificados en el proyecto.

Quito, a .... de ....., de 20....

Fdo. Sr/Sra

[www.hospitalbacaortiz.org](http://www.hospitalbacaortiz.org) (aquí va la dirección on-line de descarga)



## Anexo 3: Inserto de Técnicas

### Test cell reagents for the ID-System

Español B004350 05.10

**Reactivos de eritrocitos para detección de anticuerpos: ID-DiaCell I-II, ID-DiaCell I-II-III, ID-DiaCell I-II-III P (papainized), ID-DiaCell I-II-III Asia, ID-DiaCell Pool para identificación de anticuerpos: ID-Panel, ID-Panel P antígenos especiales: ID-Di<sup>+</sup> (Diego) positive, ID-I negative cell**

---

#### INTRODUCCIÓN

La fiabilidad de los ensayos de anticuerpos en gran parte depende de la disponibilidad de células reactivas con una dotación antigénica adecuada y de la sensibilidad de los métodos empleados.

Los criterios de selección o requerimientos de configuración antigénica de las células son rigurosos; deben asegurar la detección de todos los anticuerpos clínicamente significativos. Para el sistema Rh, MNSs, Duffy y Kidd la dotación antigénica debe estar presente en forma homogota. Además, deben estar presentes los antígenos Lewis así como el raro antígeno Kp<sup>a</sup>.

Tradicionalmente se consideraba que el procedimiento más efectivo para detectar todos los anticuerpos irregulares circulantes requería un ensayo que combinara dos métodos: la antiglobulina humana (AHG) y la prueba enzimática. Debido a los nuevos procedimientos, como Bio-Rad ID-System y debido a la mayor sensibilidad de las pruebas de antiglobulina indirecta (PA) actuales, algunos centros de distintos países consideran que el uso de pruebas enzimáticas puede ser menos importantes.

Sin embargo, las técnicas enzimáticas son muy útiles cuando se requiere incrementar la sensibilidad del ensayo de anticuerpos o cuando hay más de un anticuerpo circulante. Las enzimas poseen la reactividad de algunos anticuerpos, en especial los del sistema Rh, Kell y Kidd, mientras que los anticuerpos sensibles a los enzimas pueden ser no detectados, especialmente los de los sistemas Duffy y MNS.

Los reactivos celulares han sido especialmente preparados para el sistema ID-System.

#### REACTIVOS

**IVD**

Todos los eritrocitos de prueba son de origen humano, en un medio de suspensión tamponado al 0,8% (x 0,1%). Conservantes: los antídotos streptomín y sulfametoxazol.

**Para detección de anticuerpos en donantes individuales, grupo sanguíneo O:**

ID-DiaCell I-II	R <sub>1</sub> R <sub>2</sub> +R <sub>3</sub> para pruebas IAT y NaCl
ID-DiaCell I-II-III	R <sub>1</sub> R <sub>2</sub> +R <sub>3</sub> +r para pruebas IAT y NaCl
ID-DiaCell I-II-III P	papainizado, para técnica enzimática
ID-DiaCell Pool	R <sub>1</sub> R <sub>2</sub> +R <sub>3</sub> (2 tipos de eritrocitos agrupados para análisis sistemático de donantes)
ID-DiaCell I-II-III Asia	R <sub>1</sub> R <sub>2</sub> +R <sub>3</sub> +eritrocitos de fenotipo GPMUR, para IAT y para detección de aglutininas frías

**Para identificación de anticuerpos en donantes individuales, grupo sanguíneo O:**

ID-DiaPanel	11 tipos de eritrocitos de prueba para pruebas IAT y NaCl
ID-DiaPanel P	11 tipos de eritrocitos de prueba papainizados, para técnica enzimática

#### Antígenos especiales:

Estas células son para ser utilizadas como complementarias de otros células usadas rutinariamente en el ensayo de anticuerpos.

ID-Di<sup>+</sup> (Diego) positive  
Eritrocitos ID-I negativos  
Envío cada 4 semanas (pedido permanente)

**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.

#### REACTIVOS ADICIONALES NECESARIOS

- Tarjeta ID-Card LIS5 Coombs - Enzyme Test<sup>®</sup> con 3 microtubos que contienen suero polispecifico antiglobulina humana (AHG) para IAT en el interior de la matriz de gel, y 3 microtubos con gel neutro para técnica enzimática (Sd-no: 50581).
- Tarjeta ID-Card LIS5 Coombs con 6 microtubos que contienen suero AHG polispecifico en la matriz de gel para IAT (Sd-no: 50531).
- Tarjeta ID-Card Coombs Anti-IgG<sup>®</sup> con 6 microtubos que contienen anti-IgG de conejo en la matriz de gel para IAT (Sd-no: 50540).
- Tarjeta ID-Card NaCl, Enzyme test and cold agglutinin<sup>®</sup> con 6 microtubos que contienen gel neutro para técnica enzimática o prueba NaCl (Sd-no: 50520).
- Tarjeta ID-Card Reverse Grouping with Antibody Screening<sup>®</sup> con 3 microtubos que contienen gel neutro y 3 microtubos que contienen suero polispecifico antiglobulina humana (AHG) para IAT en el interior de la matriz de gel (Sd-no: 50510).
- ID-Diluent 2: LIS5 modificados para suspensiones de eritrocitos (Sd-no: 00711).

(Véase el prospecto correspondiente)

#### OTROS MATERIALES NECESARIOS

- ID-Dispenser
- ID-Pipettor
- ID-Tipo burbujas para pipetas
- ID-Working table (superficie de trabajo)
- Tubos de suspensión
- ID-Incubator 37 °C
- ID-Centrifuge (centrifuga) 6, 12 o 24

#### MATERIAL DE LA MUESTRA

Para un resultado óptimo, la determinación debe realizarse con una muestra recién extraída, o cumpliendo la normativa local del laboratorio en cuanto a criterios de aceptabilidad de las muestras. Preferentemente, las muestras de sangre deben recogerse utilizando citrato, EDTA o CPD-A como anticoagulante. También es posible utilizar muestras recogidas en tubos sin anticoagulante.

### Test cell reagents for the ID-System

Español B004350 05.10

#### CONTROLES

Deben incluirse muestras conocidas de acuerdo con las normas de garantía de calidad aplicables.

#### USO DE LOS ERITROCITOS DE PRUEBA ID

- Todos los reactivos de eritrocitos de prueba están destinados exclusivamente al uso con las tarjetas ID-Card del ID-System<sup>®</sup> de Bio-Rad.
- Siga estrictamente los procedimientos descritos en los correspondientes folletos de las tarjetas ID-Card utilizadas.
- Los eritrocitos sueros deben reaccionarse suavemente moviendo el frasco varias veces antes del uso, y también antes de colocar los frascos en un propulsador automático.
- Asegúrese de que los eritrocitos de prueba se empujen a temperatura ambiente (18-25 °C).
- Durante las tareas de análisis, compruebe que los eritrocitos de prueba se mantienen en suspensión. Si se produce una precipitación, resuspenda de nuevo. Evite la contaminación de los eritrocitos de prueba.
- En el sistema ID es importante la máxima precisión en el pipeteo. Utilice los dispositivos ID-Pipettors para el pipeteo en serie.
- Al registrar las reacciones, asegúrese de que el número de lote de la tabla de antígenos se corresponde con el número de lote de los frascos de reactivo.
- Después del uso, cierre los frascos e introdúzcalos de nuevo en el frigorífico.

#### INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

**A) Principio [2]**

**Positivo:** Las hemáticas aglutinadas forman una línea roja sobre la superficie de gel o están repartidas en el gel.

**Negativo:** Sedimento compacto de hemáticas en el fondo del microtubo.

*Nota:* Las células reactivas para ensayos de anticuerpos que contienen una matriz o „pool“ de células pueden dar reacciones de doble población, según el anticuerpo presente en la muestra. Esta reacción debe ser considerada como un resultado positivo.

#### B) Reacciones

Véase los prospectos correspondientes.

#### LIMITACIONES

a) La contaminación de los materiales empleados, bacteriana o de otro tipo, puede provocar falsos positivos o falsos negativos.  
b) El ensayo atiene 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, 13<sup>th</sup> edición, 1999.  
2. Lapiere, Y., Rigal, D., Adam, J., et al.: The gel test: A new way to detect red cell antigen-antibody reaction. Transfusion 1992;30:109-113.

#### PRODUCTOS

ID-DiaCell I-II-II (Sd-no: 45184)	Juego de 3 frascos (R <sub>1</sub> R <sub>2</sub> R <sub>3</sub> +r)	3 x 10 mL ..... REF 004310
ID-DiaCell I-II-III (Sd-no: 45404)	Juego de 3 frascos (R <sub>1</sub> R <sub>2</sub> R <sub>3</sub> +r)	3 x 5 mL ..... REF 004304
ID-DiaCell I-II-III Asia (Sd-no: 45330)	Juego de 3 frascos (R <sub>1</sub> R <sub>2</sub> R <sub>3</sub> +GPMUR)	3 x 10 mL ..... REF 003614
ID-DiaCell I-II-III P (Sd-no: 45194)	Juego de 3 frascos (R <sub>1</sub> R <sub>2</sub> R <sub>3</sub> +r papainized)	3 x 10 mL ..... REF 005310
ID-DiaCell I-II-III P (Sd-no: 45414)	Juego de 3 frascos (R <sub>1</sub> R <sub>2</sub> R <sub>3</sub> +r papainized)	3 x 5 mL ..... REF 005304
ID-DiaCell I-II (Sd-no: 45151)	Juego de 2 frascos (R <sub>1</sub> R <sub>2</sub> +R <sub>3</sub> )	2 x 10 mL ..... REF 003613
ID-DiaCell Pool (Sd-no: 00070)	2 tipos de eritrocitos combinados (R <sub>1</sub> R <sub>2</sub> +R <sub>3</sub> )	1 x 10 mL ..... REF 000630
ID-DiaCell Pool (Sd-no: 00070)	2 tipos de eritrocitos combinados (R <sub>1</sub> R <sub>2</sub> +R <sub>3</sub> )	3 x 10 mL ..... REF 000631
ID-DiaPanel (Sd-no: 45161)	Juego de 11 frascos	11 x 4 mL ..... REF 004114
ID-DiaPanel P (Sd-no: 45171)	Juego de 11 frascos	11 x 4 mL ..... REF 004214
ID-Di <sup>+</sup> (Diego) positive (Sd-no: 05990)		1 x 10 mL ..... REF 004134
ID-I negative cell (Sd-no: 00291)		1 x 1,6 mL ..... REF 004111

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 aquí descritos.

DiaMed GmbH  
 1785 Cressier FR  
 Suiza

0123

#### Anexo 4: Proceso de toma de muestra, tipificación y fenotipos Rh.

Toma de Muestras



Materiales



Tipificación en tubo



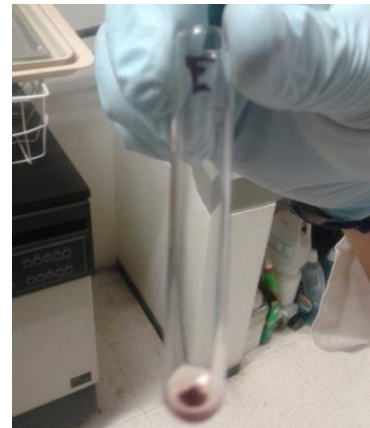
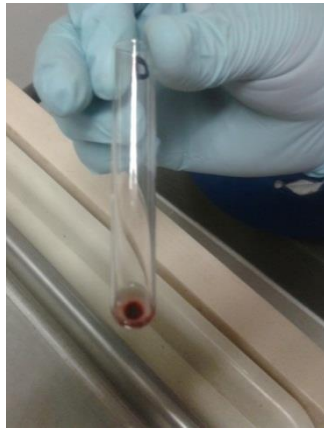
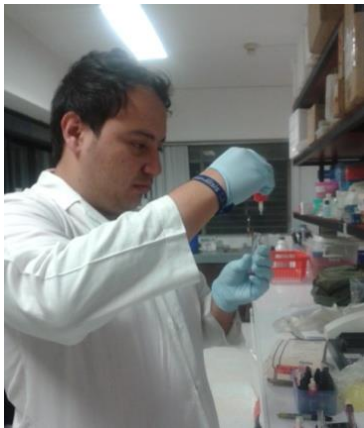
Control de Calidad



Resultados



Resultados



## **Anexo 5: Técnicas de elución**

### ***Elución con Cloroformo***

1. Preparar una solución de albúmina al 6% con solución salina.
2. En un tubo de 13x100, poner volumen a volumen la solución anterior y el paquete de eritrocitos lavados. Agregar un volumen equivalente de cloroformo.
3. Tapar con tapón de caucho, mezclar vigorosamente por 15 seg., mezclar por inversión durante un minuto.
4. Destapar con mucho cuidado para que no se proyecte el contenido.
5. Poner el tubo a 56° C durante 5 minutos exactos; mezclando constantemente con un aplicador (pipeta pasteur).
6. Centrifugar 5 minutos, pasar el sobrenadante a un tubo de 12x75, centrifugar 2 minutos, decantar el sobrenadante y realizar con él la investigación de anticuerpos.

### ***Elución con Diacidel (Dia Med)-ELU-KITT***

1. Lavar 6 veces los hematíes con solución salina isotónica 0.9%. Como mínimo se requiere 1 ml. de células concentradas.
2. Lavar 1 ml de células concentradas 4 veces con la solución de lavado Diacidel diluido 1/10 (1 parte de solución de lavado y 9 de suero fisiológico).
3. Decantar completamente después del lavado y guardar parte del sobrenadante del último lavado para la presencia de anticuerpos irregulares.
4. Añadir a 1 ml de células concentradas lavadas, 1 ml. de la solución de eluido DiaCidel. Mezclar bien.
5. Centrifugar inmediatamente durante 1 minuto a 3000 rpm. Transferir el sobrenadante eluido a un tubo limpio.
6. Añadir 5 gotas de Diacidel buffer solution para el eluido y mezclar bien, observar que se forma un color azul permanente, indicado que el pH neutro de 6.5-7.5 está obtenido. Si no se obtiene el color azul, añadir más “buffer” (1 gota) mientras se remueve bien.
7. Centrifugar el eluido durante 1 minuto a 3000 rpm para eliminar algún precipitado o resto de células que puede haber quedado.
8. Proceder a las técnicas habituales para la detección e identificación de anticuerpos utilizando el eluido.

## **Anexo 6: Técnica de control de Coombs**

Células control Coombs se producen al sensibilizar in vitro células rojas humanas con anticuerpos anti-D (IgG), cuyo objetivo primordial es producir aglutinación fuerte en presencia de los reactivos de antiglobulina humana (Coombs) de esta manera se puede controlar la viabilidad y potencia del reactivo elegido sea este en tubo o en gel.

### **Proceso:**

1. Obtener sangre con anticoagulante EDTA Rh positiva.
2. Centrifugar por 1 minuto para precipitar los glóbulos rojos.
3. Retirar el plasma con una pipeta pasteur.
4. Separar 3 ml de eritrocitos y lavar dos veces con solución salina al 0,85%.
5. Agregar dos gotas de albúmina y dos potas de anti-D monoclonal
6. Incubar durante 15 minutos a 37°C.
7. Lavar dos veces con solución salina al 0,85% y 3000 rpm.
8. Diluir en 1 ml de solución salina
9. Utilizar por 1 semana.

## Anexo 7: Proceso de rastreo de anticuerpos y resultados

**Toma de muestras**



**Centrifugación**



**Almacenamiento**



**Procesamiento**



**Incubación**



**Interpretación**



**Resultados**



**Resultados**


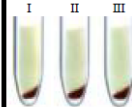


**Control de Calidad**

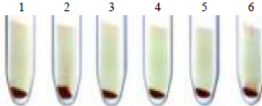
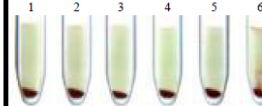


## Anexo 8: Lectura automatizada de resultados.

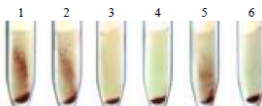
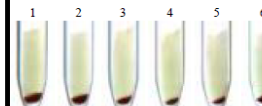
### Pruebas de Coombs Directo y Células rastreadoras I-II-III

SAMPLE: 004644					SAMPLE: 004644				
Test:PR17	Batch	Date	Operator		Test:PR15B	Batch	Date	Operator	
Direct Antiglobulin test (IAT) 5053	1st 4671	25/07/2012 0:40:07	SAGUILAR		Ab. screening: I-II-III (IAT) 5053	1st 4671	25/07/2012 0:40:08	SAGUILAR	
Barcode:5053168271302208301					Barcode:5053168271302208300				
									
DAT: negativo					RAI: negativo				

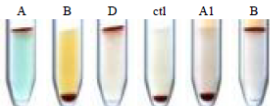
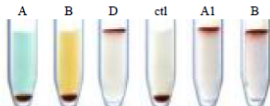
### Muestra Negativa para aloanticuerpos

SAMPLE: 004657					SAMPLE: 3				
Test:PR93	Batch	Date	Operator		Test:PR93	Batch	Date	Operator	
Identification: 11 test cells (IAT) 5053	1st 4694	26/07/2012 3:21:34	JHIDALGO		Identification: 11 test cells (IAT) 5053	1st 4705	26/07/2012 19:31:43	DCARVAJAL	
Barcode:5053168271302208312					Barcode:5053168271302208310				
									
N.A.					N.A.				

### Muestra Positiva para aloanticuerpos

SAMPLE: 27					SAMPLE: 24				
Test:PR93	Batch	Date	Operator		Test:PR93	Batch	Date	Operator	
Identification: 11 test cells (IAT) 5053	1st 4706	26/07/2012 20:11:31	DCARVAJAL		Identification: 11 test cells (IAT) 5053	1st 4706	26/07/2012 20:11:32	DCARVAJAL	
Barcode:5053168271302205942					Barcode:5053168271302205945				
									
N.A.					N.A.				

### Grupo de sangre

SAMPLE: 20122093					SAMPLE: 20122094				
Test:MO31	Batch	Date	Operator		Test:MO31	Batch	Date	Operator	
Bloodgr. + Rev.gr.: A-B-D-ctl/A1-B (DiaClon) (5009)	1st 4672	25/07/2012 5:58:52	SAGUILAR		Bloodgr. + Rev.gr.: A-B-D-ctl/A1-B (DiaClon) (5009)	1st 4672	25/07/2012 5:58:52	SAGUILAR	
Barcode:5009248051208450632					Barcode:5009248051208450634				
									
Group: A Rh(D): positivo					Groupe: O Rh(D): positivo				

## 20. BIBLIOGRAFÍA

- AABB, Technical, M. (1999). *Initial identification of alloantibodies*. Barcelona. Capítulo 25.
- AABB, Technical. M. (2000). *Noninfectious complications of blood*. En A. T. Manual. Capítulo 27.
- AABB, Technical. M. (2009). *Una alta proporción de plasma y plaquetas a concentrados de hematíes en las primeras 6 horas de la transfusión masiva mejora los resultados de un estudio multicéntrico*. 197(5)
- Aguilar Ligorit, E. (2004). Administración de sangre y hemoderivados. Compendio de medicina transfusional. *GENERALITAT VALENCIANA*.
- Alcaraz, L. (2005). Protocolo de manejo de las reacciones transfusionales. *Médica del Instituto Mexicano de Seguridad Social*
- Alcaraz López, J. L. (2005). Protocolo de manejo de las reacciones transfusionales. *Revista Médica Instituto México Seguro Social*, 43(Suplemento 1), 155 - 157.
- Alcaraz-López José Luis, Bonilla-Zavala Ruth, Luna-González Jacobo, Motes-Ledesma Marisela, Sánchez-Huerta Raquel, Chávez-Durán Miguel Ángel (2007). *Investigación en el trabajo diario de inmunohematología. Fenotipos eritrocitarios y protocolo para encontrar sangre compatible en pacientes con aloanticuerpos antieritrocitarios*: 143 (2): 23-27.
- Alfonso, V. M. (2006). Aloinmunización contra células sanguíneas en el primer trimestre del embarazo. *Rev Cubana Hematología*, 2-23.
- Álvarez, F. Enrique (1996). *Investigación serológica de reacciones transfusionales*, Rev argentina transfusiones, 22(2): 81-91
- American Red Cross (2000). *Immunohematology*, Journal of Blood Group Serology and Education, Volumen 15, Número 4, p 5-15

- Arbeláez García, C. A. (2009). Sistema de grupo sanguíneo ABO. *Medicina&laboratorio*, Volumen 15 (7-8).
- Argote, V. E. (2006). *Principios del manejo del paciente Hematológico*. México: Rogelio Martínez Macías.
- Arias Jaime, (2003). Enfermería médico-quirúrgica, Volumen 1. México: Editorial Tebar.
- Aristizábal Aristizábal, Julián; Torres Domingo José (2007). *Transfusiones en pacientes con pruebas de compatibilidad positivas y en aquellos con anemia hemolítica autoinmune*. *Atreia*, Vol 20, 379-387.
- Aspilcueta, D. M. (2008). *Manual de Hemoterapia*. Lima.
- Aygun, B; Padmanabhan, S; Paley, C. and Chandrasekaran, V. (2002), *Clinical significance of RBC alloantibodies and autoantibodies in sickle cell patients who received transfusions*. *Transfusion*, 42: 37–43.
- Barba, J. R. (2004). Transfusión de sangre y sus componentes: riesgos, beneficios e indicaciones. *MG Revista México Patología Clínica*, 51(2), 97 - 118.
- Barbolla L, C. E. (2008). Pruebas Pretransfusionales. *Compatibilidad Sanguínea*, Capítulo 4, pág 71-83.
- Barrios, F., Contreras, M., & Pujol, M. (2002). Manual Práctico de Medicina Transfusional. EEHH, p 19-37.
- Branch, D. (2012). Solving the dilemma of prevention of red cell aloimmunization. *Immuno Therapy*, 903-905.
- Brecher, M. (2002). Technical Manual 14th ed. Bethesda MD. *American Association of Blood Banks*.
- Caine, M., & Muelle-Huebanch, E. (1986). Kell sensitization in pregnancy. *Am J Obstet Gynecological*, 154: 85-90.
- Céspedes Quevedo, M. C. (2002). Lineamientos Para La Práctica Clínica De La Hemoterapia . *Medisan*, 6(4):93-98.

- Cevallos, F. (28 de Julio de 2012). Transfusión de pacientes multitransfundidos hematológicos. (A. Checa, Entrevistador)
- Chiriboga R, C. A. (2011). *Informe Parcial Determinación de Anticuerpos Irregulares en hemofílicos y pacientes oncohematológicos*. Quito: PUCE.
- Correa González, L. C. (2010). Desenmascarando el síndrome de Fisher Evans. *Hematología*, Vol. 11, Sup. p 46-47.
- Cortes Buelvas, A. (2012). 6º Ciclo Internacional de Conferencias de la Calidad, Ciudad México. “Importancia de la Serotipificación Completa en Donantes”, (págs. 1-15). México.
- Cortina Rosales Lázaro, G. P. (2003). Terapia transfusional en pacientes pediátricos con drepanocitosis. *Revista Cubana*, 19(2-3).
- Cruz Roja Ecuatoriana. (2012). *Entrevista en Línea*. Quito.
- DASS & Chaudhary RK (2007), Application of gel technology in the serologic characterization of autoantibody in DAT-positive autoimmune disease, *Immunohematology*, 23(2): 59-62.
- Dorador- Vasquez, P. (2003-2005). Determinacion de factores que se correlacionan con la especificidad de aloanticuerpos anti-eritrocitarios en donantes de sangre y pacientes del Hospital Regional de Talca.
- Dueñas, V. H., Cortés, A., Rovetto, P., & Neuta, P. A. (1999). Embarazo y transfusión y su asociación con aloanticuerpos inesperados de significancia clínica contra antígenos eritrocitarios. *Colombia Médica*, Vol 30: 26-31.
- Engelfriet CP, R. H. (2000). The detection of alloantibodies against red. *Vox Sanguis*, 200-207.
- Estadísticas. (2009). Hospital Baca Ortiz.
- Fasano, R., & Luban, L. N. (Marzo de 2008). Tratamiento con hemoderivados. *ELSEVIER*, 55(2).

- Fawwaz Al-Joudi, A. B. (2011). Prevalence and specificities of red cell alloantibodies among blood recipients in the Malaysian state of Kelantan. *Asian J Transfusion* , 5(1):42-45.
- Franco, E. (2003). El Control de la Calidad de los análisis inmunohematológicos en la Región de las Américas. *Revista Panamericana de Salud Pública*.
- Fuentes J Alvarado, D. C. (2004). Anales de la Facultad de Medicina. *III Jornadas científicas Sanfernandinas, VI Jornadas de Investigación en Salud*.
- Gallego, M., Muñoz, L., & Cortés, A. (2000). Características socioculturales de los donantes y no donantes de sangre en Colombia . *Colombia Médica*, 1-11.
- García Escamillas, R., & Méndez López, T. (2006). Reacciones adversas por transfusión sanguínea en pacientes cardiopatas . *Revista Patología Clínica*, 139 -145.
- Gavin Cho, I. R. (2011). Transfusiones regulares de glóbulos rojos a largo plazo para el tratamiento de las complicaciones respiratorias crónicas en la anemia de células falciformes. *Cochrane Database of Systematic Reviews*.
- Geffner, J. (2008). *Introducción a la Inmunología Humana*. Quinta edición: Médica Panamericana.
- González, J. L. (2007). La reacción transfusional. *Medigraphic-México Suplemento 2*, 32-36.
- Grífols Ronda, J. (2009). Una polémica estéril. En H. o. Agote, *Medicina Transfusional* (pág. Vol 71). España.
- Gustafsson, L., Wikman, A., & Lundahl, J. (2004). Evaluation of a modified IAT-gel with polyethylenglycol (PEG) addition method for red blood cell antibody identification. *Journal Clinical Laboratory Anal.*, 18, 165 - 169.
- Gutiérrez, R., & Ochoa, V. (Mayo - Agosto de 2010). Prevalencia de aloanticuerpos irregulares en pacientes del INCAN, análisis retrospectivo de 10 años. *Resúmenes de Trabajos Libres del VIII Congreso de la Asociación Mexicana de Medicina Transfusional A.C*, 3(Suplemento 1), S92 - S118.
- Hemocentro Nacional, C. (2009). *Manual Operativo*.

- Hernández Velasco, A. C. (2012). Comparación de Frecuencias de anticuerpos anti-eritrocitarios fuera del Sistema ABO entre pacientes y donadores. *Asociación Mexicana de Medicina Transfusional*, S92-S118.
- Jiménez, M. T., & Pineda, A. (2001). Aloinmunización a antígenos eritrocitarios y su epidemiología / Epidemiology of alloimmunization to erythrocytic antigens. *Revista argentina de transfusión*, 27(3), 241-251.
- Juárez-Rangel, E., Vite-Casanova, M. J., Marín y López, R. A., & Sánchez-Guerrero, S. A. (2004). Auditoria transfusional retrospectiva en el Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea. *Revista de Investigación Clínica*, 56(1), 38-42.
- Jorgelina L. Blejer, L. A. (2012). Riesgo de Transmisión de Infecciones por Vía Transfusional. *Medicina, Buenos Aires*, 62: 259-278.
- Lapierre Y, R. D. (1990). The gel test: a new way to detect red cell antigen-antibody reactions. *Transfusion*, 30; 109-13.
- Llaupitarch, J. (2010). Introducción a la Inmunología Humana. *Tratado de Medicina*, 9.
- Luna, González. J. (2005). Anticuerpos irregulares, su importancia en medicina transfusional. *Revista Médica del IMSS*.
- Luna-González, J. (2007). La reacción transfusional. *medigraphic*, 33.
- Manlab. (2001). Anticuerpos Irregulares. *Diagnóstico Bioquímico* (págs. 10-12). España: Génesis.
- Martinez, M., Fallas, A. V., Contreras, P., & Fonseca, J. (1997). Reacciones Transfusionales en el Hospital Nacional de Niños, entre abril de 1992 - 1993. *Revista Médica Hospitales de Niños*, 32(1-2).
- Mas, R. A. (2002). LEUCEMIAS.
- McClelland DBL, P. E. (2010). Manual de uso adecuado de la sangre-Versión Español. España: Scottish National Blood Transfusion Service.

- Mejía-Arreguá. (2005). Anemias hemolíticas autoinmunes. *Revista Médica del IMSS*, 43(1), 25-28.
- Miale, J. (2008). *Hematología: Medicina de Laboratorio*. Retrieved 02 22, 2013, from [http://books.google.com.ec/books?id=AyG5MzGyuo4C&pg=PA563&lpg=PA563&dq=sistema+duffy&source=bl&ots=htokBWrkj4&sig=p9\\_9jE5qv2Q7h4UAoyGF2AafV4s&hl=es&sa=X&ei=QOg0UdTzClrk8gSC6oHICg&ved=0CE0Q6AEwBw#v=onepage&q=sistema%20duffy&f=false](http://books.google.com.ec/books?id=AyG5MzGyuo4C&pg=PA563&lpg=PA563&dq=sistema+duffy&source=bl&ots=htokBWrkj4&sig=p9_9jE5qv2Q7h4UAoyGF2AafV4s&hl=es&sa=X&ei=QOg0UdTzClrk8gSC6oHICg&ved=0CE0Q6AEwBw#v=onepage&q=sistema%20duffy&f=false)
- Ministerio de Salud Pública (MSP). (2008). *Obtenido de (MSP): <http://www.salud.gob.ec/>*
- Muñiz, D., & Vega, M. (2009). *Grupos sanguíneos e inmunohematología - Medicina Interna* (16 ed.). Elsevier.
- Nardoza LM, L. G. (2008). Anti-Lewis alloimmunization: report of seven cases. *Clin Exp Obstet Gynecologia*, 35(4): 311-312.
- Notice, J. P. (10 de Agosto de 2012). *Hematología y Trastornos de Sangre*. Obtenido de The University of Chicago Medicine Comer Children's Hospital: For Medical Professionals: <http://www.uchicagokidshospital.org/online-library/content=S05429>
- Oliveria, M., & Gatti, L. (2006). IMPORTANCE OF BLOOD SYSTEMS RH, LEWIS, DUFFY, KELL, MNS AND KIDD IN MULTITRANSFUSIONS. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, 1-9.
- Organización Panamericana de la Salud. (2005). Documentos técnicos políticas y regulaciones. *Comparativo de Legislaciones sobre sangre segura*.
- Organización Panamericana de la Salud. (2009). Elegibilidad para la donación de sangre. *Recomendaciones para la educación y selección de donantes potenciales de sangre.*, 7.
- Organización Panamericana de la Salud OPS. (1999). Estándares de Bancos de Sangre.
- Organización Panamerica de la Salud, P. N. (2004). Estándares de Trabajo para Servicios de Sangre. *Publicación del Ministerio de Deportes, Bolivia*.

- Organizacion Panamericana de la Salud, O. (2011). *Estándares de Trabajo para servicios de sangre*. Washington.
- Orizola, S., Corvalán, M., Diaz, M., Ríos, O., & Sejas, L. (2008). Screening and identification of irregular antibodies in population of Antofagasta. *Revista Científica Salud*, 12(1) 7-13.
- Ortiz, M. A. (2000). *Manual de Inmunohematología*. Mexico-Veracruz.
- Ortiz, P., Mingo, A., & Lozano, M. a. (2005). Guía sobre la transfusión de componentes sanguíneos. *Sociedad Española de Transfusión Sanguínea*, 125(10):389-96.
- Pérez, F., Díaz, G., & Pérez, R. (2009). Eficacia de la transfusión alogénica. En F. Pérez, *Medicina Transfusional* (págs. 7-14). Madrid: Panamericana.
- QBP Hernández Velasco Ana Cecilia, T. A. (2010). Comparación de Frecuencias de anticuerpos anti-eritrocitarios fuera del Sistema ABO entre pacientes y donadores. *Asociación Mexicana de Medicina Transfusional*, S92-S118.
- Quishi, W., Qiaoni, Y., Yingzhe, B., Chengxin, Z., Yanni, D., & Degiang, F. (2012). Frequency of RBC alloantibodies in Chinese Surgical Patients. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, 39, 283 - 286.
- Red distrital de Bancos de Sangre y Servicios de Transfusión Sanguínea. (2007). Documento Marco: Programa de Calidad Externo en Inmunohematología para Servicios de Sangre. Pág: 14-24.
- Regalado, R. (2004, Abril). Retrieved Septiembre 4, 2012, from <http://es.calameo.com/read/00080978214049cc6f7b6>
- Reverberi, R. (2008). The persistence of red cell alloantibodies. *Blood Transfusion*, 225-234.
- Rivera, J., Navarro-Núñez, L., Lozano, M., Martínez, C., Corral, J., Gonzáles Conejero, R., & Vicente, V. (2007). Valor diagnóstico de las pruebas de función plaquetaria. *haematologica*, 1, 92.

- Rodríguez Moyado, R. Q. (2004). Los Grupos Sanguíneos en la Población de la República Mexicana: El Banco de Sangre y la Medicina Transfusional. *Médica Panamericana*, 45 - 85.
- Rosee WF, G. D. (1990). Transfusion and alloimmunization in sickle cell disease. *Blood*, 76: 1431-1437.
- Rueda Ordoñez, E. V. (2008). Evaluación de los Aprendizajes. Colombia: Editorial UDES.
- Ruiz de Gaona, Rifón, J., Pérez Calvo, M., & Bendandi, R. (2007). La anemia en la leucemia linfática crónica. *Revista Médica Unive. Navarra*, 51, 3 - 10.
- Salvatella Flores, M. J. (2008). Antecedentes históricos de la Medicina Transfusional. *Medigraphic*, 1(1), 7-9.
- Sánchez-Girón, F., Quintanar-García, E., Alcaraz, J. L., Storry, J., & Mallory, D. (1999). Reacción hemolítica transfusional tardía por anti-Kpb. *Revista Mexicana de Patología Clínica*, 46(3).
- Sánchez, O., & Barrientos, O. O. (2007). Implicaciones de la Terapia Transfusional. *Revista Española de Anestesiología y reanimación*.
- Sandoval Pinzon, L. (2012). Anticuerpos Irregulares en la Medicina Transfusional. *Revistas Biomédicas*.
- Schonewille H, v. d. (2006). Red blood cell alloantibodies after transfusion: factors influencing incidence and specificity. *Transfusion*, 46: 250-256.
- Sepúlveda, C. (2009). *Inmunología Básica y Clínica* (Primera edición ed.). Editorial Mediterráneo.
- Sociedad Española de Transfusión Sanguínea. (2010). Guía sobre la transfusión de componentes sanguíneos y derivados plasmáticos. España: SETS.
- Telen, M. (2001). Principles and problems of transfusion in sickle disease. *Seminars of Hematology*, 38(4): 315-23.

- Torrealba, P., & Emerita, L. (2003). Atención de la paciente RH Negativo en el Hospital Central del Dr Placido Rodriguez Rivero. *Boletín Médico de Postgrado* , Vol 3.
- Torres Padilla, J. (2008). Prevalencia de anticuerpos antieritrocitarios en pacientes con cáncer. *Rev Mex Patol Clinica*, Vol. 55, Supl. 1, pp S5-S30.
- Ulloa Andrea, Chiriboga Rosa, Análisis retrospectivo de la presencia de aloanticuerpos en donantes del Hemocentro de Cruz Roja Ecuatoriana (2009-2012). Tesis 2013.
- Universidad de Veracruz- Facultad de Bioanálisis. (2002). Manual de Inmunohematología. 13-34.
- Valdés Yalile, A. (2001). Procedimiento para la detección e identificación de anticuerpos eritrocitarios. *Rev Cubana Hematología Inmuno Hemoter*, 17(2) 98-107.
- Van den Akker, E., kumper, F., Brand, A., Kanhai, H., & Oepkes, D. (2008). Kell alloimmunization in pregnancy: associated with fetal thrombocytopenia? *Vox Sanguis-Transfusion*, Vol (1): 66-9.
- Vásquez, J. E. (2002). Reacciones Postransfusionales. *Scielo*, 23 - 27.
- Winters, J. (2001). RBC Alloantibody specificity and antigen potency in Olmsted Country. *Transfusion*, 41, 1413 - 1420.
- Zalpuri Saurabh, Zwaginga Jaap Jan, Van der Bom, JG. (2012). Risk Factors for Alloimmunisation after red blood Cell Transfusions (R-FACT): a case cohort study, *BMJ Open* 1-12.
- Zavala Bonilla, R. (2005). Pruebas Pre-transfusionales. *Revista Médica del IMSS*, 43(Suplemento 1:16).