



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
CURSO UNIVERSITARIO DE ESPECIALIZACIÓN EN PATOLOGÍA CLÍNICA**

**UMAE HOSPITAL DE CARDIOLOGÍA
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI, IMSS**

**PREVALENCIA DE ANTICUERPOS IRREGULARES DIFERENTES AL SISTEMA ABO,
EN DONADORES DE SANGRE QUE ACUDEN AL BANCO CENTRAL DE SANGRE
EN CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI, IMSS.**

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN

PATOLOGÍA CLÍNICA

PRESENTA:

DRA. ANA LUZ BÁEZ LÓPEZ

TUTORES DE TESIS

DRA. MALVA HILDA MEJÍA ARREGUI

**JEFA DE DIVISIÓN DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN
EN SALUD, BANCO CENTRAL DE SANGRE, CMN SIGLO XXI, IMSS**

DRA. MARIA LUISA PORTILLO LÓPEZ

**JEFE DEL DEPARTAMENTO DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN
EN SALUD, BANCO CENTRAL DE SANGRE, CMN SIGLO XXI, IMSS**

DR. JESUS MANUEL MONTIEL RAMÍREZ

México, D.F. Agosto de 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

HOJA DE FIRMAS

“PREVALENCIA DE ANTICUERPOS IRREGULARES DIFERENTES AL SISTEMA ABO, EN DONADORES DE SANGRE QUE ACUDEN AL BANCO CENTRAL DE SANGRE EN CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI, IMSS”.

Dr. Moisés CALDERÓN ABBO

Director General

U.M.A.E. Hospital de Cardiología, CMN Siglo XXI, IMSS.

Dr. Jesús Salvador VALENCIA SÁNCHEZ

Director de Educación e Investigación en Salud

U.M.A.E. Hospital de Cardiología, CMN SXXI, IMSS.

Dr. Jesús Manuel MONTIEL RAMÍREZ

Profesor Titular del Curso de Postgrado de la Especialidad de Patología Clínica

U.M.A.E. Hospital de Cardiología, CMN SXXI, IMSS.

Dra. Malva Hilda MEJÍA ARREGUI

Directora de Tesis

Jefa de División de Educación e Investigación en Salud

Banco Central de Sangre CMN Siglo XXI, IMSS.

AGRADECIMIENTOS

- Laboratorio de Inmunohematología del Banco Central de Sangre de CMN Siglo XXI por su apoyo con material y reactivos necesarios para la elaboración de este trabajo.
- Q.F.B Ruth Bonilla Zavala por su apoyo y asesoría en la realización de las técnicas de rastreos de anticuerpos irregulares.
- Personal del Banco de Sangre (Almacén, Servicios de Informática y Laboratorio de serología infecciosa) por su apoyo en la obtención de material, datos y muestras para realizar este trabajo.

DEDICATORIAS

A mis padres quienes con sus sabios consejos, apoyo, amor y demostración ejemplar me han enseñado a no desfallecer ni a rendirme ante nada y a siempre perseverar. Les dedico este y todos mis esfuerzos futuros.

A mi hermana por ser mi amiga y compañera de toda la vida, gracias por tus consejos y tu apoyo incondicional.

A mi directora de tesis, profesores y amigos que con sus valiosas aportaciones hicieron posible este proyecto.

ABREVIATURAS

AABB	Asociación Americana de Bancos de Sangre
Ac	Anticuerpo
BCS	Banco Central de Sangre
CMN	Centro Médico Nacional
Di	Diego
DS	Desviación Estándar
EHRN	Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido
Fy(a, b)	Duffy
Jk(a, b)	Kidd
K	Kell
Le (a, b)	Lewis
LISS	Low Ionic Strength-Saline, solución salina de baja fuerza iónica
Lua	Lutheran
RTH	Reacción Transfusional Hemolítica
RTHR	Reacción Transfusional Hemolítica Retardada

ÍNDICE

HOJA DE FIRMAS.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
DEDICATORIAS.....	4
ABREVIATURAS.....	5
INDICE.....	6
1. RESUMEN.....	8
2. INTRODUCCIÓN.....	12
2.1 Características de los componentes sanguíneos.....	12
2.2 Consideraciones relevantes en la detección de anticuerpos irregulares.....	14
2.3 Factores que determinan la importancia clínica de los anticuerpos.....	15
2.4 Anticuerpos de Importancia Clínica.....	16
2.5 Anticuerpos asociados a Reacciones Transfusionales Hemolíticas.....	16
2.6 Anticuerpos que raramente producen Reacciones Hemolíticas Postransfusionales.....	16
2.7 Habitualmente producen Enfermedad Hemolíticas del Recién Nacido.....	17
2.8 Raramente producen Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido.....	18
2.9 Indicaciones para el rastreo de Anticuerpos Irregulares.....	19
2.10 Clasificación de los Anticuerpos en Inmunohematología.....	20
2.11 Características y comportamiento de los Anticuerpos.....	22
2.12 Factores que influyen en la reacción antígeno-anticuerpo.....	23
2.13 Técnicas para la Identificación de Anticuerpos Irregulares.....	23
2.14 Interpretación del Anticuerpo de acuerdo a la Fase de Aglutinación.....	24
2.15 Sistemas de Grupos Sanguíneos.....	27
2.15.1 Grupo sanguíneo MNS.....	27
2.15.2 Grupo sanguíneo P	27
2.15.3 Grupo sanguíneo Rh.....	28
2.15.4 Grupo sanguíneo Lutheran	29
2.15.5 Grupo sanguíneo Kell	29
2.15.6 Grupo sanguíneo Lewis.....	30
2.15.7 Grupo sanguíneo Duffy.....	31
2.15.8 Grupo sanguíneo Kidd	32
2.15.8 Grupo sanguíneo Diego.....	32
2.15.9 Otros sistemas relevantes.....	33
2.16 Fenotipos eritrocitarios y protocolo para encontrar sangre compatible en pacientes con aloanticuerpos antieritrocitos.....	34
2.17 Cálculo de la probabilidad de encontrar una unidad de sangre compatible en pacientes que presentan anticuerpos irregulares.....	36
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	39
4. JUSTIFICACIÓN.....	39
5. OBJETIVOS.....	39
5.1.1 Objetivo General.....	39
5.1.2 Objetivos Particulares.....	40
6. HIPÓTESIS.....	40

7. MATERIAL Y MÉTODOS.....	40
7.1Diseño del estudio.....	40
7.2 Universo de Trabajo.....	40
7.3 Descripción de las Variables.....	41
7.3.1 Variable Dependiente.....	41
7.3.2 Variable Independiente.....	41
7.4 Selección de la muestra.....	42
7.4.1 Tamaño de la muestra.....	42
7.4.2 Criterios de selección.....	42
7.5 Procedimientos.....	42
7.5.1 Técnica de Tamizaje de Anticuerpos Irregulares.....	43
7.5.1 Técnica en gel (Tarjetas Diana Gel COOMBS) semiautomatizado.....	43
7.5.1.2 Técnica automatizada en equipo Wadiana.....	43
7.5.2 Técnica de Rastreo de Anticuerpos Irregulares con panel ampliado.....	44
7.6 Interpretación de Aglutinación.....	46
7.7 Preparación de Células Conocidas.....	47
7.8 Preparación de Células Sensibilizadas.....	47
7.9 Control de Calidad de Células Sensibilizadas.....	48
7.10 Análisis estadístico.....	48
7.11 Consideraciones éticas	49
7.12 Recursos para el estudio	49
8. RESULTADOS.....	50
8.1 Análisis de Frecuencia en el Banco Central de Sangre de CMN Siglo XXI.....	50
8.2 Prueba de hipótesis para diferencia de proporciones en grandes muestras.....	55
8.3 Análisis estadístico de mujeres donadoras en relación al número de embarazos.....	56
8.4 Prueba exacta de Fischer.....	59
8.5 Prevalencia de anticuerpos irregulares en donadores.....	59
9. DISCUSIÓN.....	60
10.CONCLUSIONES.....	61
11. BIBLIOGRAFIA.....	62

RESUMEN

La transfusión sanguínea es un recurso terapéutico de suma importancia sin embargo, es un procedimiento de riesgo, ya que puede dar origen a serias complicaciones, incluso mortales. Es un recurso de apoyo, pero frecuentemente, va seguido de una insuficiente valoración del riesgo-beneficio.

La detección de un anticuerpo y su identificación constituye una de las prácticas más interesantes en el campo de la Inmunohematología. La mayoría de las personas no tienen anticuerpos irregulares en su suero y su incidencia se ha calculado entre 0.3 y 2% dependiendo del grupo de individuos examinados y de las técnicas usadas para la investigación^{7, 8}. Las normas de bancos de sangre establecen que se debe practicar la investigación de anticuerpos irregulares en el suero de donantes de sangre y en candidatos a recibir transfusiones. En los donantes la investigación tiene por finalidad detectar anticuerpos irregulares para prevenir su transferencia al receptor. Las normas de la Asociación Americana de Bancos de Sangre recomiendan especialmente que estas pruebas deben realizarse en aquellos donantes con historia de transfusiones anteriores o embarazos⁹.

Los aloanticuerpos irregulares más comunes en nuestra población son los que involucran a los sistemas MNSs, P1, Kidd (Jka, Jkb), Duffy (Fya, Fyb), Kell, Lewis y Diego¹⁵.

En México existen escasos reportes sobre la detección de anticuerpos irregulares en donadores, uno de ellos fue publicado por el Hospital Infantil de México Federico Gómez en el año 2001 en donde estudiaron un total de 1011 donadores de los cuales 886 fueron mujeres con más de una gesta y 125 Rh (D) Negativos, obteniéndose 8 búsquedas de anticuerpos irregulares positivas con las siguientes especificidades: cuatro anti - Lea 3 multíparas (con 5, 3 y 2 gestas y 1 Rh(D) Negativo (sin transfusión), dos anti - K1 2 multíparas (con 7 gestas), una con anti- Dia 1 multípara (con 5 gestas), una con anti - E en una paciente multípara (con 4 gestas)²¹.

JUSTIFICACIÓN

En México y particularmente en el Banco Central de Sangre de Centro Médico Nacional Siglo XXI no contamos con estadísticas sobre la prevalencia con que se presentan donadores que son portadores de anticuerpos irregulares y que de manera indirecta pudieran condicionar una respuesta de aloinmunización en pacientes receptores de componentes sanguíneos principalmente plasma fresco congelado y plaquetas. Tampoco se conoce cuáles son los tipos de anticuerpos que pueden estar presentes y que debido a su capacidad hemolítica pueden poner en riesgo la vida del paciente. Existen escuelas que realizan tamizaje en todos sus donadores, sin embargo las frecuencias reportadas no son estadísticamente significativas, por lo que con este estudio se demuestra la prevalencia con que se presentan estos anticuerpos en los donadores que acuden al Banco Central de Sangre de CMN Siglo XXI, tipos de anticuerpos y se evalúa el costo beneficio de realizar el tamizaje de forma rutinaria en todos los donadores.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Conocer la prevalencia de los anticuerpos irregulares diferentes al sistema ABO y su importancia en padecimientos hemolíticos por transfusión, así como la frecuencia de estímulos antigénicos previos a su formación, clase de anticuerpo y así poder demostrar la importancia de su estudio rutinario en Banco de Sangre, antes de cualquier transfusión de hemoderivados.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar la prevalencia de anticuerpos irregulares en donadores que acuden al Banco Central de Sangre de CMNSXXI.
- Determinar la prevalencia de anticuerpos fríos y calientes.
- Determinar la prevalencia de estímulos antigénicos previos a su formación.
- Evaluar el costo-beneficio de su estudio rutinario en base a los resultados obtenidos.

HIPÓTESIS

La prevalencia de anticuerpos irregulares diferentes al sistema ABO en donadores de sangre que acuden al Banco Central de Sangre de Centro Médico Nacional Siglo XXI será igual o mayor al reportado a nivel mundial.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se reunió un total de 1000 muestras de donadores que asistieron de manera voluntaria al Banco Central de Sangre de CMN Siglo XXI durante el mes de mayo y junio del 2013, los datos necesarios para el estudio fueron recabados de la historia clínica que se realiza de manera habitual en la valoración de los donadores. Las muestras fueron procesadas en el laboratorio de Inmunohematología del Banco Central de Sangre utilizando tamizaje con 3 células y los positivos se corrieron con panel completo de 10 células.

RESULTADOS

De los 1000 donadores que se incluyeron en el estudio, el 74% fueron hombres y el 26% mujeres. La media de la edad fue de 41.7 en el total de la muestra y de 35.5 años para hombres y 33 años para las mujeres. La mediana fue de 39.5 años para el total de la población y 35 años para los hombres y 34.8 para las mujeres. El porcentaje de donadores del grupo O fue del 71.7% del grupo A fue del 20%, del grupo B del 6.9%, y grupo AB del 1.4%. El Rh positivo fue en el 96.8% y negativo en el 3.2%.

De los 3 anticuerpos positivos se obtuvo un valor de p 0.001 para el global de la población considerando hombres y mujeres. Considerando únicamente la población de embarazadas, con los 3 anticuerpos positivos, se obtuvo un valor de p 0.07.

Con la prueba exacta de Fischer se obtuvo una especificidad de p 0.003 para el para el anti- P, de 0.02 para el anti-Lea, y de 0.1 para el anti-Kell.

La prevalencia de los anticuerpos irregulares diferentes al sistema ABO en donadores que acuden al Banco Central de Sangre de CMN Siglo XXI es del 0.3%

Conclusiones

El estudio realizado ha permitido actualizar la estimación de la prevalencia de anticuerpos irregulares en los donadores que acuden al Banco Central de Sangre de CMN Siglo XXI, IMSS. Los tres casos de donadores con presencia de anticuerpos irregulares en nuestro estudio se asociaron a los antecedentes de embarazo.

Una donadora de 36 años de grupo A positivo que donó sangre total, con anti-P, tiene antecedente de 2 embarazos, el último en el 2001. Otra donadora de 52 años de grupo O positivo que donó sangre total, con anti-Le^a, tiene antecedente de 3 embarazos, el último en 1988. La siguiente donadora de 50 años de grupo O positivo que donó sangre total, con anti-Kell, tiene antecedente de 4 embarazos, el último en 1990.

De lo anterior concluimos que es importante hacer una búsqueda intencionada en los donadores principalmente mujeres incluso con antecedente de dos embarazos ya que los resultados obtenidos difieren de lo que reporta la literatura en donde se menciona que es frecuente encontrar anticuerpos irregulares en multíparas con más de 3 embarazos.

Evaluar el costo-beneficio sigue siendo un punto controversial sin embargo es importante hacer notar que un paciente hospitalizado que recibe una transfusión con un componente sanguíneo que tenga presente un anticuerpo irregular puede provocar aloinmunización presentando en el peor de los escenarios una reacción transfusional sobre todo en hospitales en donde se omite la prueba cruzada menor que se requiere para la transfusión de plasmas frescos congelados y de aféresis plaquetarias. O bien que a futuro requiera de componentes fenotipados ante la presencia de prueba cruzadas incompatible, condición que está limitada a unos cuantos centros hospitalarios que cuenten con equipo y material y sobre todo de personal calificado para realizar e interpretar dichos estudios.

A futuro valdría la pena estudiar de forma intencionada a una muestra representativa solo de mujeres con antecedente de uno, dos más embarazos para conocer la prevalencia específicamente en este grupo de riesgo.

1. INTRODUCCIÓN

La transfusión sanguínea es un recurso terapéutico de suma importancia en las diferentes áreas de la medicina como son hematología, oncología, traumatología, medicina crítica, ginecología y cirugía por mencionar algunas. A pesar de sus beneficios indiscutibles, la transfusión es un procedimiento con riesgo, ya que puede dar origen a serias complicaciones, incluso mortales. Es un recurso de apoyo, pero frecuentemente, va seguido de una insuficiente valoración del riesgo-beneficio ya que este procedimiento terapéutico no está exento de producir efectos sobre la salud y seguridad del paciente¹.

Con la finalidad de favorecer la homeostasis, la transfusión de sangre humana, ha sido y es utilizada para recuperar los elementos constitutivos de la sangre, para lo cual se usan los diferentes componentes sanguíneos como plasma, concentrados eritrocitarios, plaquetas y crioprecipitados².

Para que una transfusión sea óptima se requiere de tolerancias inmunológicas entre donador y receptor, ya que la transfusión de sangre es una forma de trasplante, es necesario que el donante no tenga anticuerpos dirigidos contra los antígenos del receptor³.

2.1 Características de los componentes sanguíneos.

Los concentrados eritrocitarios, funcionan como un mecanismo auxiliar en el transporte de O₂ en aquellos pacientes a quienes una condición patológica les impide elaborar eficientemente sus propias células sanguíneas, o bien, en pacientes con pérdida sanguínea grave en quienes el vital líquido es requerido para recuperar o mantener la homeostasis del cuerpo³.

El plasma es la porción líquida de la sangre que puede obtenerse a partir de unidades de sangre completa o bien por plasmaféresis. Una unidad de plasma puede actualmente suplir diversos componentes purificados para diferentes fines terapéuticos, quedando el uso de plasma total relegado a un papel secundario en el tratamiento de los problemas de coagulación y como expansor de la volemia. El procesamiento del plasma en el banco de sangre permite obtener: plasma

fresco congelado, crioprecipitado de Factor VIII y fibrinógeno así como plasma simple (plasma sobrenadante del crioprecipitado)⁴.

Del procesamiento del plasma en forma industrial se obtiene: albúmina, fracción de proteína plasmática, gammaglobulina y concentrados de los factores de coagulación I (fibrinógeno), VIII (factor antihemofílico) y complejo protrombínico (II, VII, IX, X), estos son los llamados hemoderivados del plasma⁴.

El plasma fresco congelado se debe identificar en relación al tipo ABO y Rh y debe administrarse a receptores ABO compatibles. En algunas instituciones hospitalarias consideran innecesario practicar pruebas de compatibilidad (prueba cruzada menor) hasta la fase de Coombs si en el donante se descartó la presencia de anticuerpos irregulares⁵, pero siempre es importante corroborar grupo sanguíneo tanto de donador como de receptor ya que aún en manos expertas existe la posibilidad de cometer errores en la tipificación de grupo.

Otro componente de gran demanda es la transfusión de plaquetas que puede obtenerse por fraccionamiento de la sangre total o por aféresis plaquetaria, procedimiento que conlleva un menor riesgo transfusional. La decisión de transfundir plaquetas depende básicamente de la condición clínica del paciente, si hay sangrado activo secundario a trombocitopenia, también depende del conteo de plaquetas y de su actividad funcional. Entre las indicaciones podemos citar las siguientes: pacientes con neoplasias malignas bajo tratamiento con quimioterapia o radioterapia, que desarrollan trombocitopenia secundaria a aplasia medular. Como tratamiento profiláctico de hemorragias con un conteo de 30,000/ml, en la trombocitopenia secundaria a transfusiones masivas, en CID cuando simultáneamente se trata la causa subyacente y en anormalidades funcionales de las plaquetas. Algunos pacientes producen anticuerpos antiplaquetarios como resultado de transfusiones previas o de embarazos. La indicación y dosis debe ser precisa pues de lo contrario no se le está haciendo ningún beneficio al paciente. El médico debe precisar de antemano, si la transfusión de plaquetas es con fines terapéuticos o si se desea hacer profilaxis de una posible hemorragia. Debido a que las plaquetas están inmersas en una cantidad considerable de plasma, es importante tener en cuenta la posibilidad de que este presente un anticuerpo irregular y también porque poseen antígenos

plaquetarios que pueden despertar una respuesta inmunológica con la consecuente refractariedad plaquetaria, por lo anterior no se recomienda tratar cifras de laboratorio si no hay manifestaciones clínicas de hemorragia ⁶.

La detección de un anticuerpo y su identificación constituye una de las prácticas más interesantes en el campo de la Inmunoematología. La mayoría de las personas no tienen anticuerpos irregulares en su suero y su incidencia de ha calculado entre 0.3 y 2% dependiendo del grupo de individuos examinados y de las técnicas usadas para la investigación^{7, 8}. Muchos de estos anticuerpos son problemas complejos, que requieren ciertas facilidades en el laboratorio para su resolución y de parte del investigador requiere tiempo y experiencia.

Las normas de bancos de sangre establecen que se debe practicar la investigación de anticuerpos irregulares en el suero de donantes de sangre y en candidatos a recibir transfusiones. En los donantes la investigación tiene por finalidad detectar anticuerpos irregulares para prevenir su transferencia al receptor. Las normas de la Asociación Americana de Bancos de Sangre⁹ recomiendan especialmente que estas pruebas deban realizarse en aquellos donantes con historia de transfusiones anteriores o embarazos.

Un estudio realizado en el Hospital “José de San Martín” de la Universidad de Buenos Aires resume que su casuística en cuanto al origen de los anticuerpos inmunes es el siguiente ¹⁰:

Antecedentes	Porcentaje individuos sensibilizados
Femenino solo embarazada	1 %
Femenino embarazada y transfundida	2.8 %
Masculino y Femenino solo transfundido	1.4%
Masculino y Femenino sin antecedentes	0.4%

2.2 Consideraciones relevantes en la detección de anticuerpos irregulares¹⁰

- Es un proceso clave en las pruebas de compatibilidad pre-transfusional.
- El objetivo de los métodos de detección es el hallazgo de los anticuerpos irregulares o inesperados.

- Presentes en 0.3 - 2 % de la población general.
- Capaces de iniciar la destrucción acelerada de los glóbulos rojos portadores del antígeno.
- Especificidades asociadas con:
 - a. Enfermedad hemolítica del Recién Nacido
 - b. Reacciones hemolíticas postransfusionales
 - c. Acortamiento de la supervivencia de los glóbulos rojos transfundidos
 - d. Anemia hemolítica autoinmune

2.3 Factores que determinan la importancia clínica de los anticuerpos ¹⁰

- Especificidad del anticuerpo
- La concentración y la avididad de los anticuerpos.
- Rango térmico
- Clase y subclase de inmunoglobulina
- Actividad del sistema mononuclear fagocítico
- Movilidad y densidad de sitios antigénicos en la membrana
- Volumen de glóbulos rojos administrados
- Presencia de sustancias solubles del grupo sanguíneo
- Algunas especificidades tienen un comportamiento variable
- No contamos con información acerca del comportamiento de algunas especificidades poco comunes
- En ocasiones es difícil precisar la especificidad de un anticuerpo determinado

2.4 Anticuerpos de Importancia Clínica ¹⁰

Clínicamente significativos	Significativos que reaccionan a 37°C	Significativos algunas veces	Clínicamente benignos
ABO	Lea	Yta	Chido/Rodgers
Rh	M, N	G	JMH
Kell	P1	Gya	Knops
Duffy	Lutheran	Hh	Bg
Kidd	A1		Xg

2.5 Anticuerpos asociados a Reacciones Transfusionales Hemolíticas ¹⁰

Anticuerpos	Comentarios
ABO, H	RTH intravascular grave
Rh(D,C,c,E,e)	RTH inmediatas y retardadas
K,k,Ku / resto	RTH inmediatas / retardadas
Fya, Fyb, Fy3	RTH inmediatas y retardadas
Jka, Jkb, Jk3	RTH inmediatas y retardadas 1/3 de RTH retardadas son por anti-Jka
S,s,U,Mur*,Mia*,Vw,Far,Ena	RTH inmediatas y retardadas *Frecuentes en el Sudeste Asiático

2.6 Anticuerpos que raramente producen Reacciones Hemolíticas Postransfusionales ¹⁰

Anticuerpos	Excepciones
A1, Lewis, P1, LKE, I	P1, A1, Lea, Leb : RTH Inmediatas y

Suelen ser IgM no activos >25°C	Retardadas
Lua, Lub	Algunas RTHR moderades
Sistema Diego	Wra es la excepción
Oka, GIL, PEL, MAM	No hay referencias, pero son potencialmente hemolíticos

Los anticuerpos asociados a la enfermedad hemolítica del recién nacido (EHRN) entidad que no se aborda en este trabajo pero por su trascendencia clínica es importante conocerlos; a continuación se señalan los anticuerpos encontrados en el estudio realizado por el Hospital “José de San Martín” de la Universidad de Buenos Aires.

2.7 Habitualmente producen Enfermedad Hemolíticas del Recién Nacido¹⁰

Anticuerpos	Comentarios
Rh(D), c	EHRN grave y frecuente
C, E, e, G	EHRN ocasional
Ce(f), Ce, Cw, Ew, Hro, Hr, Rh29,, Goa, Rh32, Bea, Evans, Tar, Sec, JAL, MAR-like	
K	Anemia aplásica > Anemia hemolítica
K, Kpa, Jsa, Jsb, Ula, Ku, K22	EHRN leve
ABO	EHRN poco frecuente
S,s,U	EHRN grave

M	EHRN excepcionalmente grave
Ena, Mia, Vw, Mur, Hut, Hil, Mta, Mv, Far, sD, Or, Mut, Mur	EHRN ocasionalmente grave
Fya, Fyb	EHRN leve, grave.
Jka, Jkb	No suelen producir EHRN.
Coa, Cob	EHRN grave
Dia, Dib, Wra, ELO, Bow	Pocos casos. EHRN grave
Ge	Generalmente no causan EHRN. Inhibe la eritropoyesis
HJK, Kg, REIT, JVF, JONES, MAM	EHRN grave

2.8 Raramente producen Enfermedad Hemolítica del Recién Nacido¹⁰

Anticuerpos	Comentarios
Anti-PP1Pk (fenotipo p)	Se asocian a abortos recurrentes del 1er trimestre.
Lua, Lub	Ags poco desarrollados en el feto. Acs adsorbidos por la placenta.
Lea, Leb	No activos a 37°C. No se expresan en el feto.
Acs de los sistemas: Yt, Do, LW, Ch/Rg, Cr, Kn, In	No se han descrito casos de EHRN grave.
Acs: Cost, Er, Sc1, Sc2, Sc3, Xga, Oka, MER2, JMH, GIL, Emm,	

AnWj, Sda, Duclos, PEL, ABTI, HLA	1 caso por anti-Duclos.
Vel	IgM. Poco expresado en el feto.
Lan, Ata, Jra	1 caso reciente grave por anti-Jra.

2.9 Indicaciones para el rastreo de Anticuerpos Irregulares.

En los receptores de sangre, la detección de anticuerpos irregulares como prueba pretransfusional, complementa y facilita la prueba cruzada, dándole mayor seguridad a la transfusión. Otras indicaciones de esta prueba son ¹¹:

- A. En mujeres embarazadas, para detectar anticuerpos que puedan causar enfermedad hemolítica del recién nacido o discrepancias en la prueba cruzada para el momento del parto, en caso de que la paciente requiera ser transfundida.
- B. Para aclarar discrepancias séricas en el sistema ABO.
- C. Para el estudio de reacciones hemolíticas transfusionales.
- D. En el estudio de anemias hemolíticas autoinmunes.

La prueba debe ser realizada bajo una variedad de condiciones que consisten en:

1. Centrifugación inmediata
2. Incubación a temperatura del laboratorio (20-24°C)
3. Incubación a 37°C con o sin adición de medios potenciadores de la aglutinación.
4. Fase de antiglobulina humana.

La fase de centrifugación inmediata puede remplazar la incubación a temperatura del laboratorio, si se desea. En esta fase se detectan anticuerpos de la clase IgM que reaccionan en frío. Anticuerpos activos a temperatura del laboratorio pero no a 37°C, son considerados sin importancia clínica a menos que el paciente que reciba este componente sea sometido a hipotermia como en el caso de las cirugías de corazón. Ciertos anticuerpos que aglutinan los glóbulos rojos suspendidos en salina y también a 37°C (algunos ejemplos de anti-Kell y anti-D), son de importancia clínica, sin embargo se pueden detectar mejor en las fases de albúmina y antiglobulina ¹¹. Como resultado de esta fase es posible observar aglutinación o hemólisis después de la centrifugación.

La albúmina ha sido usada desde 1945 para potenciar la aglutinación de los glóbulos rojos por anticuerpos clínicamente significativos, por ejemplo los anticuerpos contra el Rh y anti-K. Entre las diferentes formas comerciales, la polimerizada ha demostrado ser más efectiva¹².

2.10 Clasificación de los Anticuerpos en Inmunohematología.

Desde el punto de vista de la medicina transfusional, los anticuerpos contra antígenos sanguíneos se clasifican como sigue ¹³.

1. Anticuerpos contra aloantígenos: los que se producen contra antígenos de eritrocitos, leucocitos y plaquetas.
2. Anticuerpos contra los propios antígenos del individuo: autoanticuerpos contra antígenos de eritrocitos y plaquetas, y los producidos en enfermedades autoinmunes.

Los aloanticuerpos se clasifican de la siguiente forma:

- a. Irregulares naturales: anti A1, anti-M, anti-N, anti-P1, anti-E, entre otros.
- b. Irregulares adquiridos o inmunes: anti-sistema Rh-Hr (anti-D, anti-c, anti-C, anti-E, anti-e), anti-Kell, anti-Duffy.

Los anticuerpos del sistema ABO aparecen una vez que el individuo entra en contacto con el medio ambiente y en el cual se encuentran microorganismos

como algunas bacterias coliformes que contienen sustancias químicas en su estructura parecidas a las de este sistema ¹⁴.

Por anticuerpos regulares debemos identificar a los que existen en todos los individuos y que éstos tendrán durante toda su vida. Los anticuerpos irregulares son los que no están de esa manera, aunque en el caso de los naturales no se conoce a ciencia cierta qué o cómo se induce su producción. Los adquiridos se conocen también como inmunes y son el resultado de la exposición a antígenos desconocidos por el individuo al momento de la transfusión o en las mujeres por el embarazo; estos anticuerpos son dirigidos contra antígenos de sistemas diferentes al ABO ¹⁴.

Los anticuerpos naturales regulares son preferentemente inmunoglobulinas M, las cuales fijan de manera tan eficiente el complemento que pueden provocar lisis intravascular y ocasionar insuficiencia renal o incluso la muerte del paciente.

Los anticuerpos adquiridos o inmunes son generalmente inmunoglobulinas G, las cuales producen hemólisis extravascular en el bazo o en el hígado mediante fagocitosis del complejo antígeno-anticuerpo ¹⁴.

De acuerdo con la temperatura óptima de reacción, estos anticuerpos se dividen en anticuerpos fríos y anticuerpos calientes. Los anticuerpos fríos van dirigidos contra los sistemas MN, Lewis y P1, con óptima reacción a temperaturas entre 4 y 22 °C; estos anticuerpos son generalmente inmunoglobulinas tipo M y ocasionalmente tipo G. Entre estos anticuerpos sólo M y N han sido asociados con enfermedad hemolítica del recién nacido, cuya severidad va de leve a moderada. Los llamados anticuerpos calientes tienen una temperatura óptima de reacción a 37 °C, a veces visible pero en otras ocasiones sólo evidente hasta agregar antiglobulina humana (suero de Coombs). Estos anticuerpos tienen una relevante importancia clínica ya que se les asocia con reacciones transfusionales de intensidad moderada a severa, que pueden ocasionar la muerte; además, son causantes de enfermedad hemolítica en el recién nacido, quien en ocasiones requiere exsanguineotransfusión ¹⁵.

Los aloanticuerpos irregulares (adquiridos) más comunes en nuestra población son los que involucran a los sistemas MNSs, P1, Kidd (Jka, Jkb), Duffy (Fya, Fyb), Kell, Lewis y Diego. ¹⁵.

2.11 Características y comportamiento de los Anticuerpos.

Las reacciones antígeno-anticuerpo pueden observarse in vitro por ^{16,17}:

1. Hemólisis: la unión antígeno-anticuerpo se traduce en lisis de los eritrocitos en presencia del complemento (siempre que el anticoagulante empleado no capture los iones Ca y Mg necesarios para la activación del complemento).
2. El uso de enzimas como ficina, tripsina, quimiotripsina, ditiotretitol/papaína, stalidasa, bromelasa son útiles para potenciar la reactividad de algunos anticuerpos como los pertenecientes a los sistemas Rh, Lewis, Kidd, Vel e I. Las enzimas también modifican o destruyen otros antígenos: MNS, Duffy, Pr, Xg^a, Yt^a, Cs^a, Ch^a, propiedad que igualmente facilita la identificación de los correspondientes anticuerpos.
3. Aglutinación: los anticuerpos que reaccionan en medio salino se conocen como anticuerpos completos o aglutinantes (comúnmente tipo IgM). Como ya se comentó, existen diferentes elementos que influyen en la reacción antígeno-anticuerpo y que deben conocerse para utilizarlos adecuadamente en la búsqueda de anticuerpos irregulares.
4. Aglutinación en medio macromolecular: hay anticuerpos que se aglutinan mejor cuando se suspenden en una solución de macromoléculas (albúmina, dextrán, gelatina, polivinilpirrolidona (PVP); aquí la albúmina en concentración de 22 a 30 % incrementa la constante dieléctrica del agua, lo que disminuye el potencial zeta. Hay evidencia de que el dextrán y el PVP potencializan la reacción con puentes de polímeros.
5. Prueba de Coombs: este procedimiento es útil para poner de manifiesto anticuerpos incompletos o sensibilizantes.
6. Soluciones de baja fuerza iónica: reducen la barrera electrostática facilitando la reacción antígeno-anticuerpo.

2.12 Factores que influyen en la reacción antígeno-anticuerpo ¹⁷

- a) Centrifugación: acelera la reacción antígeno-anticuerpo, por la fuerza que produce la misma.
- b) Temperatura: afecta la reacción antígeno-anticuerpo de acuerdo con la temperatura óptima de reacción: 4 a 22 °C para los fríos, o 37 °C para los calientes.
- c) Proporción de antígeno y anticuerpo: es importante en la búsqueda de la zona de equivalencia de la reacción antígeno-anticuerpo. Es fundamental tener un panel de células, donde estos importantes fenotipos ya hayan sido tipificados para usarlos en la identificación del anticuerpo correspondiente.
- d) pH: con un valor de 6-7.3 se detecta la mayoría de los anticuerpos clínicamente significativos, con excepción del anti-M e I que actúan mejor a pH más bajos.
- e) Fuerza iónica: Está directamente relacionada con el potencial z. En la solución salina los iones de Na y Cl se reúnen alrededor de los antígenos y de los anticuerpos y neutralizan parcialmente cargas opuestas, esto impide la asociación del antígeno con el anticuerpo, pero puede disminuirse de diferentes formas. Por lo que el resultado del efecto de eliminar, neutralizar o disminuir estas cargas ayuda a conseguir una constante de equilibrio mejor y a incrementar la velocidad de reacción.
- f) Temperatura: varía en la mayoría de los anticuerpos y de su medio de reacción. Los agentes potenciadores incrementan la cantidad de anticuerpo que se fija al antígeno en los primeros 15 minutos y en consecuencia disminuye el tiempo de incubación, en medios con solución salina o albúmina lo adecuado son de 30 a 60 min a 37°C para detectar la mayoría de los anticuerpos clínicamente significativos.

2.13 Técnicas para la Identificación de Anticuerpos Irregulares ¹⁸

1. Técnica salina: previamente lavados, los eritrocitos del panel de fenotipo conocido se ponen en contacto con el suero problema a razón de una gota de

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

2. Técnica en solución salina de baja fuerza iónica o LISS (low ionic strength-saline): con una gota eritrocitos previamente lavados y suspendidos en una dilución entre 2 y 3 %, se agregan dos gotas de LISS se centrifuga y se decanta, se agrega 1 gota de LISS más dos gotas del suero problema y una gota más de LISS se incuba por 15 minutos a 37° C, se lava tres veces con solución salina y se agrega dos gotas suero de Coombs; centrifugar y leer.

3. Técnica enzimática con bromelina (bromelasa): por el fuerte efecto que tiene esta enzima sobre los eritrocitos, los tiempos de incubación se reducen. El procedimiento es de la siguiente forma: a una gota eritrocitos lavados se les agrega dos gotas del suero problema más una gota de la enzima; se incuban, se centrifugan y se leen. Después se incuban a 37 °C por 15 minutos; se centrifugan y se leen. Para finalizar, se lavan en la forma ya mencionada y se les agrega suero de Coombs; se centrifugan y se leen.

4. Técnica en albúmina: en esta técnica se procede de forma parecida a la salina, sólo que se omite el paso de la incubación a 22 °C, respetándose también los tiempos de incubación. Como reactivo adicional se agrega en cada tubo dos gotas de solución albuminosa. Todas las pruebas se fundamentan en las características mencionadas previamente para las reacciones antígeno-anticuerpo. En cualquier técnica los resultados se deben anotar inmediatamente e interpretar en conjunto al final.

2.14 Interpretación del Anticuerpo de acuerdo a la Fase de Aglutinación^{19, 20}

Es importante al hacer el análisis considerar lo siguiente:

- ¿En que fase ocurrió la reacción?
 - IgG reacciona mejor en fase AGH (Coombs). Pueden ser aglutinantes a 37°C.
 - IgM reacciona mejor a baja temperatura y es capaz de aglutinar glóbulos rojos suspendidos en solución fisiológica a temperatura ambiente.
 - Hay IgM que pueden reaccionar con AGH debido a la fijación de complemento.

TA	37° C	SAG	CLASE DE Ig INVOLUCRADA
+	o	o	1) IgM
o	o	+	2) IgG
+	+	o	3) IgM (alto rango térmico), (rara).
+	o	+	4) IgM que fija C' o 5) IgM + IgG
o	+	+	6) IgG "aglutinante"
+	+	+	3, 4, 5, o 6

- ¿Cuál es el resultado del control autólogo?
 - Se realiza enfrentando el suero del paciente con sus propios GR.
 - Control autólogo negativo en presencia de una detección de anticuerpos irregulares positiva indica la presencia de un aloanticuerpo.
 - Control autólogo positivo indica la presencia de autoanticuerpos, anticuerpos inducidos por drogas o de origen autoinmune.
 - Si el paciente ha sido recientemente transfundido el control autólogo positivo puede deberse a la presencia de un aloanticuerpo unido a los glóbulos rojos transfundidos.
- ¿Cuántas células reaccionan? ¿Reaccionan con la misma fuerza y en la misma fase?
 - Presencia de un único anticuerpo dirigido contra un antígeno:

- Las células reaccionan en la misma fase y con la misma intensidad
- Presencia de múltiples anticuerpos.
 - Las células reaccionan con diferente intensidad o en diferentes medios
- Presencia de autoanticuerpos.
 - Autocontrol positivo
- ¿Hay hemólisis o campo mixto?
 - Anti-Lea, anti-Leb, y anti-PP1Pk producen hemólisis in vitro
 - Anti- Lua y Lub producen reacciones en campo mixto.
 - Pacientes recientemente transfundidos.
- ¿Están realmente aglutinados los GR o se debe a fenómeno de rouleaux?
 - Se observa en todas las pruebas que contengan suero del paciente (autocontrol, inversa ABO)
 - Pacientes con relación albúmina-globulinas alterada (por ej. mieloma múltiple)
 - Pacientes que recibieron expansores plasmáticos (por ej. Dextran)

2.15 Sistemas de Grupos Sanguíneos

2.15.1 Grupo sanguíneo MNS

Descrito serológicamente en 1927 por Landsteiner y Levine (en experimentos en los que inmunizaban conejos frente a hematíes humanos). Hoy sabemos que sus antígenos representan los productos de los genes *GYPA* y *GYPB* (situados en 4q28.2-q31.1) que codifican para glucoforina A (M/N) y glucoforina B (S/s), respectivamente. Así, la forma predominante de glucoforina A sería el antígeno M y una variación puntual (Ser1 → Leu o Gly5 → Glu) da lugar a al antígeno N. Igualmente, la glucoforina B puede presentarse como antígeno S o como antígeno s según su aminoácido 29 (Met29 → Thr, respectivamente) ²¹. Múltiples variantes moleculares (mutaciones y deleciones) producen más de 40 antígenos infrecuentes (M1, M2, Ma, Mg, N2, S2). La glucoforina A es una proteína integral extensamente representada en la membrana que evita la agregación eritrocitaria en la circulación (con 106 copias por hematíe contribuye a la glucocalix y funciona como chaperona de la proteína del canal de aniones) ²². Sin embargo, no se conoce el papel fisiológico de la glucoforina B, que no resulta obvio, dado que su fenotipo nulo (S-s-U-/S-s-Uw+) no asocia ninguna anomalía hematológica clara. Su relación con las enfermedades no está bien acreditada dado que las descripciones realizadas no han sido suficientemente contrastadas por grupos diferentes de investigadores; así, se atribuye al fenotipo NS cierta protección frente a la bronquitis crónica en fumadores moderados ²³. Igualmente, resta por confirmar el papel del sistema MNS en la hipertensión arterial.

2.15.2 Grupo sanguíneo P

Fue descrito también serológicamente por Landsteiner y Levine en los mismos experimentos (1927). Sin embargo, el conocimiento de su bioquímica y genética están resultando de mayor complejidad ²⁴. Actualmente se relaciona, en gran medida, con el producto del gen *P1* situado en 22q11.2-ter, codificando para una galactosiltransferasa que añade galactosa sobre una cadena precursora de azúcares (conocida como paraglobósido) y ceramida (un precursor de lípidos abundante en las membranas plasmáticas)²⁴. Su principal forma molecular determina el antígeno P1 en la membrana eritrocitaria, coexistiendo con P y Pk. Por el contrario, en los sujetos P2 (un 20% de blancos y un 6% de negros) como

no aparece la forma P1 (disponen sólo de P y Pk) se desarrolla un anticuerpo anti-P1 con gran frecuencia (de forma prácticamente natural). Aunque los portadores excepcionales de su fenotipo nulo (P1- P-Pk- o Tja-) no tienen asociada ninguna anomalía hematológica clara, destacan por la aparición de un anticuerpo hemolizante de alta peligrosidad hemoterápica (anti-Tja) causante también de abortos de repetición²⁵. Esta situación podría ser menos excepcional en los grupos de población Amish. Debido al parecido estructural con la cubierta de algunos virus y espiroquetas, ciertas infecciones (especialmente las viriasis en los niños y la sífilis en los adultos) cursan (por reacción cruzada) con la aparición de un auto-anti-P con características de «hemolisina bifásica» (por su afinidad térmica en el laboratorio, denominada también de Donath-Landsteiner), que produce el cuadro clínico de hemoglobinuria paroxística *a frigore*²⁶. Ciertas cepas (altamente patógenas/nefritógenas) de la bacteria *E. coli* sólo pueden fijarse a las células epiteliales del tracto urinario si presentan antígeno P1^{27, 28}. Se han descrito infecciones urinarias más agresivas y prolongadas en sujetos P1 que en P24 . Este antígeno P1 sirve también de receptor eritrocitario para el parvovirus B19 de forma que los individuos negativos para P1 resultan resistentes a esta infección (mantienen una eritropoyesis normal incluso en plena viremia²⁹).

2.15.3 Grupo sanguíneo Rh

Fue descrito por Landsteiner y Wiener en experimentos con el macaco Rhesus y por Levine en pacientes entre 1939 y 1940. Es el sistema de mayor importancia clínica y transfusional tras el ABO, con aparición frecuente de enfermedad hemolítica neonatal (por anti-D) y el de mayor complejidad. Depende de la expresión de 2 genes, *RHD* y *RHCE* (situados en 1p36.13-p34.3, que codifican para las proteínas CD240D y CD240CE, respectivamente). La presencia del antígeno RhD define a los sujetos D+ (Rh+) y su ausencia (por delección del gen *RHD*) a los D- (Rh-), mientras que 2 lugares polimórficos de la proteína CE dan lugar a los 4 posibles antígenos (C, E, c, e): la variación Ser103 → Pro determina el cambio C → c y Pro226 → Ala, el cambio E → e2,³⁰. La herencia transmite los alelos de ambos genes unidos, formando un haplotipo en el que se producen frecuentes pérdidas de material o intercambios de exones, lo que conforma un sistema de elevadísima complejidad (con más de 45 antígenos, D débiles y D

parciales)³⁰. Su importancia en hemoterapia radica en la frecuencia con que puede originar reacciones transfusionales hemolíticas (incluso mortales) y en la gravedad de muchas formas de isoinmunización Rh materno-fetal con enfermedad hemolítica del recién nacido. Asimismo, suele ser una especificidad anti-Rh global la que se obtiene del suero (o se eluye de los hematíes sensibilizados) en caso de la anemia hemolítica autoinmune (AHA) por anticuerpos calientes. Se trata de proteínas estructurales de membrana dado que el raro fenotipo Rh null (debido generalmente a la ausencia de un precursor *RHAG*) origina anomalías morfológicas eritrocitarias (estomatocitosis) con anemia hemolítica³¹.

2.15.4 Grupo sanguíneo Lutheran

En 1945 Callender describe el primer anti-Lua en un receptor de hemoderivados llamado Lutheran. Los antígenos de este sistema dependen de la expresión del gen *LU* (situado en 19q13.2), que codifican para la glucoproteína Lutheran (de la que se conocen 19 formas antigénicas diferentes); los 2 antígenos principales, denominados Lua o Lub, dependen también de un único polimorfismo localizado en el aminoácido 77 (His → Arg)³². Las formas moleculares de la proteína Lutheran representan las variantes de un tipo de molécula de adhesión (*basal cell adhesion molecule*, B-CAM/LU) que reacciona con la laminina vascular. Aunque los raros individuos Lu (a-b-) suelen cursar con abundancia de hematíes espiculados (acantocitosis), el origen del trastorno pocas veces se localiza en el *locus LU* sino que se debe a la presencia de un gen inhibidor dominante, independiente: *In(LU)41*. Parece que tienen importancia clínica en la anemia falciforme donde se ha probado su sobreexpresión (que podría agravar las crisis vasooclusivas)³³.

2.15.5 Grupo sanguíneo Kell

Este importante sistema (el segundo en inmunogenicidad tras el Rh) fue descrito por Coombs poco tiempo después (1946) a partir del hallazgo de un anti-Kell causante de EHRN. Hoy sabemos que depende de la expresión del gen *KEL* (situado en 7q33) codificando para la glucoproteína Kell de 732 aminoácidos (incluye 24 antígenos diferentes, como K1, KEL2 o Celano, KEL3 o Kpa, KEL4 o

Kpb). Funciona como metaloproteasa con capacidad para activar endotelinas (como ET3) pero su ausencia (Kell nulo o Ko) no lleva asociada patología.

Sin embargo, debemos mencionar el llamado fenotipo McLeod K-Kx- (forma grave de Kell nulo en el que no hay precursor codificado desde el cromosoma X, llamado Kx, que constituye un auténtico sistema: ISBT-19). Afecta sólo a varones que sufren anemia hemolítica (moderada), que cursa también con acantocitosis³⁴ (como se debe a una delección más o menos extensa del cromosoma X, puede cursar también con distrofia muscular tipo Duchene (neuroacantocitosis³⁵) y/o enfermedad granulomatosa crónica).

2.15.6 Grupo sanguíneo Lewis

El primer anticuerpo de este sistema (anti-Lea) fue descrito también en 1946. Hoy conocemos que depende del gen *FUT3* (situado en 19p13.3), que codifica para una fucosiltransferasa de 361 aminoácidos, cuya actividad se relaciona con el carbohidrato que sirve de sustrato para el grupo ABO (H); este gen transforma la sustancia H en sustancia Lea pero los individuos secretores (Se/Se o Se/se) la transforman de nuevo en Leb (incluye 6 antígenos diferentes). Singularmente, es un sistema de antígenos solubles (sintetizados en el tubo digestivo, abundantes en el plasma y las secreciones) que secundariamente se incorporan a los hematíes por adsorción, motivo por el que los hematíes de los neonatos son transitoriamente de fenotipo Le (a-b-). Esto también explicaría los cambios de fenotipo que pueden aparecer en caso de tumores y gestación. Los isómeros de Lea y Leb (Lex y Ley, respectivamente) son producidos por diferentes fucosiltransferasas homólogas (*FUT4*, *FUT6*, *FUT7* y *FUT9*); resultan relevantes por controlar la migración celular durante la embriogénesis pero su mayor interés depende de su capacidad para regresar como neoantígenos en los tejidos malignizados (de donde deriva su uso como marcadores tumorales). Junto con los sistemas ABH y secretor, puede influir sobre determinados procesos: – La actividad de fosfatasa alcalina intestinal.

– La composición en oligosacáridos de la leche materna con distinto grado de protección frente a las diarreas del lactante: las madres Le (a-b-) generan la máxima protección³⁶.

– Diversos aspectos de la función inmune (mencionados al tratar el grupo ABO).

- La concentración de algunos marcadores tumorales de la serie CA. La presencia de sialil-Le(a) o sialil-Le(x) (considerados auténticos marcadores tumorales CA19-9 que funcionan como ligandos de selectinas) facilitarían las interacciones con el endotelio de órganos distantes requeridos por el proceso metastásico, lo que proporciona un mal pronóstico a diversos tumores. Pero lo realmente interesante es que influya de forma tan notable en la concentración de estos marcadores tumorales; así, los valores límite entre normalidad y anormalidad del marcador CA19-9 (útil en el manejo del cáncer de páncreas) dependen también de los genotipos Lewis y secretor³⁷.
- El riesgo tromboembólico debido a la interacción fenotípica con el gen *Se*. Los sujetos de grupo Leb tendrían (como los no O) un nivel superior de FvW y FVIIIc con mayor riesgo de tromboembolia, aunque la responsabilidad se imputa al gen *Se*³⁸. Se estableció experimentalmente que Leb era el receptor de *H. pylori* en la mucosa gástrica (en secretores)³⁹. La ausencia del gen *FUT3*, auténtico fenotipo nulo → Le (ab–) es frecuente (presente en el 5% de los adultos caucásicos) y no produce enfermedad, aunque si estos sujetos son trasplantados, sus injertos podrían experimentar supervivencias inferiores.

2.15.7 Grupo sanguíneo Duffy

Este sistema fue descrito serológicamente en 1950, al encontrarse el primer anti-Fya en el suero de un hemofílico multitransfundido (al año siguiente se describe el primer anti-Fyb en el suero de una múltipara). Hoy conocemos que depende del gen *DARC* (*Duffy antigen/receptor for chemokines* en 1q22-q23), que codifica para una glucoproteína Duffy de 338 aminoácidos (CD234) que funciona como un receptor de quimiocinas (se ha especulado que podría funcionar como un sumidero para el exceso de quimiocinas circulantes). Sus 2 alelos más comunes en individuos de raza caucásica (Fya/Fyb) suponen otro polimorfismo: se diferencian en el aminoácido 42 (glicina/aspártico, respectivamente). *Plasmodium vivax*, causante de malaria, requiere necesariamente este receptor para penetrar en el interior del hematíe y desarrollar su fase intracelular del ciclo vital. Una mutación puntual que bloqueó el promotor del gen habría dejado sin expresión Duffy eritrocitaria a algunos individuos negros del África occidental hace miles de años y hoy se aproximan al 100%, dada la presión selectiva que ha causado la enfermedad. Estos sujetos –Fya-Fyb– están completamente protegidos frente a

esta forma de malaria, por lo que *P. vivax* prácticamente ha desaparecido de estas zonas. Se da el fenómeno curioso de que estos individuos sí expresan proteína Duffy en otros tejidos⁴⁰. Pero la lucha por la vida supone un cambio y adaptación constantes y afecta a todas las especies, de modo que otro parásito, *Plasmodium falciparum*, más agresivo y mucho menos selectivo (que utiliza múltiples vías de entrada al hematíe como glucoforinas A, B, C y D, entre otras) perpetúa la epidemia; así, con más de un millón de niños muertos que *P. falciparum* produce cada año, está comenzando a afectar a otros sistemas de grupos sanguíneos (como el Gerbich) en áreas endémicas y se relaciona con la abundancia y la alta prevalencia de hemoglobinopatías (drepanocitosis y talasemias entre otras) de estas zonas (estas anomalías suponen una ventaja adaptativa, ya que permiten bloquear el ciclo eritrocitario del parásito)⁴⁰.

2.15.8 Grupo sanguíneo Kidd

Este sistema fue descrito en 1951 a partir de un anticuerpo circulante en una gestante sensibilizada (Mrs. Kidd). Depende del gen *UT1* (*urea transporter*, situado en 18q11- q12), que codifica para una glucoproteína Kidd de 389 aminoácidos que funciona como transportador de urea. Sus 2 antígenos más comunes (Jka y Jkb) suponen también un polimorfismo que afecta al aminoácido 280. Aunque los sujetos con fenotipo nulo Jka-Jkb⁻ sufren un ligero defecto en el transporte de agua y urea, no están clínicamente enfermos; destacan por su posibilidad de desarrollar un anticuerpo contra ambas especificidades simultáneamente, tras una gestación o una transfusión, denominado anti-Jk3. No se conoce bien el motivo de su abundancia en poblaciones asiáticas⁴¹.

2.15.8 Grupo sanguíneo Diego

El primer anticuerpo (anti-Dia) fue descrito en Venezuela (1955), y causa también la enfermedad hemolítica del recién nacido. El correspondiente antígeno sería la denominada banda 3 o proteína del canal de aniones (AE1, o *anion exchanger*). Recibe ambos nombres pues desempeña ambas funciones (sus dominios intracitoplásmicos tendrían función estructural (banda 3) y sus dominios transmembrana serían el canal para el paso del Cl⁻ y el CO₃H⁻. El 100% de los individuos de raza caucásica son Dia⁻, lo que reduce las oportunidades de

inmunización (se considera un antígeno marcador de raza mongoloide y afecta al 20-30% de indígenas en Latinoamérica).

Es una proteína estructural muy abundante en la membrana, a la que aporta estabilidad por su interacción con la anquirina y la espectrina del citoesqueleto eritrocitario⁴². Así, muchos casos de la conocida esferocitosis hereditaria (algunos con acidosis tubular renal) se deben a mutaciones de esta proteína (que involucra sus dominios intracitoplásmicos); sin embargo, no afectan a antígenos Diego. Su importancia estructural es tal que la ausencia total de banda 3 podría ser incompatible con la vida. Por otro lado, también se relaciona con la prevalencia de la malaria.

2.15.9 Otros sistemas relevantes

Grupo sanguíneo Hh

Debido a otra fucosiltransferasa (FUT1) aparece un residuo de fucosa como azúcar terminal inmunodominante en los sujetos con grupo sanguíneo O (sobre la que se añadirían los azúcares de grupo A o B en presencia de las transferasas específicas). Su característica más destacada proviene de los sujetos homocigotos para su forma variante (hh), dado que carecen de grupo ABO (son los individuos con grupo Bombay equivalente a un ABO nulo) con importantes repercusiones transfusionales (al disponer de un anti-H natural junto al anti-A y anti-B, no pueden tampoco recibir sangre O). El fenotipo Bombay, descrito en esa ciudad en 1952, es relativamente abundante en la India (hasta 1/10.000) y no se asocia con ninguna enfermedad hematológica.

Grupo sanguíneo I

Representa otro sacárido relacionado con el grupo ABO. En la mayoría de adultos la sustancia fetal denominada i se transforma en I⁴³. La pérdida de la correspondiente transferasa produce un fenotipo I nulo, que en la población asiática se asocia con una catarata congénita. En hemoterapia su interés proviene de la frecuencia con que podemos observar autoanticuerpos anti-I fríos. En los casos de mayor potencia y amplitud térmica, éstos pueden fijar el complemento y producir una anemia hemolítica autoinmune fría (la llamada «enfermedad por crioaglutininas», frecuentemente asociada con linfomas). Los

anticuerpos de especificidad anti-i se observan transitoriamente en algunas viriasis (mononucleosis infecciosa) y hemopatías malignas.

Grupo Secretor

El 80% de los individuos, como resultado del gen Se (combinaciones SeSe o Sese), expresan antígenos de grupo ABO(H) en sus secreciones epiteliales. Ello permite que aparezca el Leb sobre los eritrocitos si existe el correspondiente gen. Los sujetos homocigotos SeSe (es decir, algunos de los Leb+) tienen (como los no O) un valor más alto de FvW47⁴⁴, que podría incrementar los procesos tromboembólicos. También se afirmó que los sujetos no secretores tenían más infecciones urinarias.

2.16 Fenotipos eritrocitarios y protocolo para encontrar sangre compatible en pacientes con aloanticuerpos antieritrocitos.

En la década del 70, el Dr. Héctor Rodríguez Moyado y la Química. Elisa Quintanar García en colaboración con el Dr. B.W. Grunbaum⁴⁵ realizaron el primer estudio en México de grupos sanguíneos en la población de donadores del Banco Central de Sangre, frecuencia fenotípica que se utiliza de referencia para estudios y cálculos de posibilidades para encontrar sangre compatible en los pacientes con aloanticuerpos.

En el 2007 en el BCS de Centro Médico Nacional Siglo XXI publicó un estudio realizado durante 4 años referente a los fenotipos eritrocitarios y el protocolo para encontrar sangre compatible en pacientes con aloanticuerpos anti eritrocitos, se menciona que proporcionaron sangre fenotipada a 623 pacientes con anticuerpos irregulares antieritrocitos; a continuación se presentan las frecuencias fenotípicas encontradas en estos pacientes comparadas con las frecuencias encontradas en donadores en el mismo periodo en los cuadros I al VII divididas por sistemas de grupos sanguíneos ⁴⁶.

Cuadro I. Frecuencia de fenotipos eritrocitarios y antígenos potencialmente peligrosos en la transfusión sanguínea en el sistema ABO

Fenotipo	Donadores %	Pacientes %
O	72.02	65.62
A	19.75	24.56
B	7.01	8.03
AB	1.22	1.76

Cuadro II. Frecuencia de fenotipos eritrocitarios y antígenos potencialmente peligrosos en la transfusión sanguínea en el sistema Rh

Rh Positivo	Donadores	Pacientes	Rh Negativo	Donadores	Pacientes
R1R1 (CCDee)	26.4	31.69	rr (ccdee)	2.64	4.30
R2R2 (ccDEE)	6.93	7.8	r'r' (Ccdee)	0.16	0.32
R1R2 (CcDEe)	26.07	28.03	r'r' (CCdee)	0.16	0.16
R1r (CcDee)	17.73	10.51	ryr (ccdEe)	0.3	0
R2r (ccDEe)	7.5	8.76			
R1Rz(CCDEe)	3.79	5.41			
R2Rz(CcDEE)	3.8	1.27			
RzRz(CCDEE)	2.3	0			
Ror (ccDee)	1.56	1.27			

Cuadro III Frecuencia de fenotipos eritrocitarios y antígenos potencialmente peligrosos en la transfusión sanguínea en el sistema Kell

Fenotipo	Donadores	Pacientes
kk	98.1	96.75
Kk	1.9	3.25
KK	0.0	0.0

Cuadro IV. Frecuencia de fenotipos eritrocitarios y antígenos potencialmente peligrosos en la transfusión sanguínea en el sistema Duffy

Fenotipo	Donadores	Pacientes
Fy(a-b+)	15.0	21.0
Fy(a+b-)	40.67	39.26
Fy(a+b+)	42.65	37.08
Fy(a-b-)	1.65	0.96

Cuadro V. Frecuencia de fenotipos eritrocitarios y antígenos potencialmente peligrosos en la transfusión sanguínea en el sistema Kidd

Fenotipo	Donadores	Pacientes
Jk(a-b+)	18.02	27.55
Jk(a+b-)	25.19	23.64
Jk(a+b+)	56.78	48.81

Cuadro VII. Frecuencia de fenotipos eritrocitarios y antígenos potencialmente peligrosos en la transfusión sanguínea en el sistema MNSsU

Fenotipo	Donadores	Pacientes
SS	16.15	9.88
ss	40.61	42.46
Ss	43.24	47.66

Cuadro VI. Frecuencia de fenotipos eritrocitarios y antígenos potencialmente peligrosos en la transfusión sanguínea en el sistema Diego

Fenotipo	Donadores	Pacientes
Di(a-b+)	94.1	91.62
Di(a+b+)	5.9	7.78
Di(a+b-)	0.3	0.60

Una de las utilidades principales de conocer las frecuencias fenotípicas en una población dada, es calcular la probabilidad de encontrar sangre compatible de acuerdo al anticuerpo o anticuerpos que se detecten.

2.17 Cálculo de la probabilidad de encontrar una unidad de sangre compatible en pacientes que presentan anticuerpos irregulares ⁴⁶

1. Cuando se detecta un solo anticuerpo, se aplica una regla de tres con la frecuencia de donadores encontrada:

Ejemplos: El paciente tiene un anti-K1, la frecuencia del K1 negativos en la población mestiza mexicana es de 98.1; por lo que será

$$\frac{98.1 - 100\%}{1 - X} = \frac{1 \times 100}{98.1} = 1 \text{ (Cruzar 1 sangre)}$$

El paciente tiene un Anti-e: La frecuencia de donadores e negativos es: ccDEE, cCDEE, CCDEE = 6.9 + 3.8 + 2.3 = 13.03, por lo tanto:

$$\frac{13.03 - 100\%}{1 - X} = \frac{1 \times 100}{13.03} = 7.67 \text{ (Cruzar 7 sangres para encontrar una compatible)}$$

2. Cuando se detectan 2 o más anticuerpos irregulares, se suman las frecuencias porcentuales de cada sistema como en el caso anterior se dividen entre 100, se multiplican por la frecuencia de cada sistema implicado se obtiene un valor exponencial base 10 y para obtener la frecuencia en la población se recorre el punto hacia la derecha hasta obtener un valor superior a uno; cada guarismo equivale a 10 exponencial (10, 100, 1000, etc): ese valor se divide entre la frecuencia encontrada y así conocer la cantidad de sangre que se debe cruzar para encontrar una sangre compatible.

Ejemplo: El paciente tiene un anti-E más Anti-Fya:

La frecuencia de donadores E negativos son: CCDee, CcDee y ccDee = $26.4 + 17.73 + 1.56 = 45.69$

La frecuencia de donadores Fy(a-b+), Fy(a-b-) = $15.0 + 1.65 = 16.65$

La frecuencia genética será: $0.4569 \times 0.1665 = 0.07607$ ($0.07607 \times 100 = 7.607$).
Por lo que en 100 donadores hay 7.6 compatibles, si queremos una unidad de sangre será $100 \div 7.601 = 13.15$ = Cruzar 13 sangres para encontrar una compatible E negativa Fya negativa.

En la población estudiada se encontró con frecuencia la mezcla de anticuerpos Anti-cE más anti-Fya más Anti-Jka, para encontrar un concentrado eritrocitario compatible : CCDee = 26.4 Fy(a-) = 16.65 Jk(a-) 18.02

La frecuencia será: $0.264 \times 0.1665 \times 0.1802 = 0.00792$ ($0.00792 \times 100 = 7.92$)
Por lo que hay 7.92 donadores compatibles en mil sangres

$1,000 \div 7.92 = 126.26$ = Cruzar 126 sangres para encontrar una compatible.

Para resolver estos problemas complejos, el Banco Central de Sangre cuenta con una base de datos de más de 5,000 donadores familiares y altruistas con los fenotipos eritrocitarios estudiados, a los que se les localiza solicitándoles su donación para estos pacientes además de buscar sangre compatible entre la donación familiar diaria.

De lo anterior deriva parte de la importancia de transfundir componentes sanguíneos sin la presencia de anticuerpos irregulares debido a la dificultad de encontrar sangre compatible para aquellos pacientes que tienen 2 o más anticuerpos irregulares.

Finalmente cabe destacar que en México existen pocos reportes sobre la detección de anticuerpos irregulares en donadores, uno de ellos fue publicado por el Hospital Infantil de México Federico Gómez en el año 2001 en donde estudiaron un total de 1011 donadores de los cuales 886 fueron mujeres con más de una gesta y 125 Rh (D) Negativos, obteniéndose 8 búsquedas de anticuerpos irregulares positivas con las siguientes especificidades: cuatro anti - Lea 3 multíparas (con 5, 3 y 2 gestas y 1 Rh(D) Negativo (sin transfusión), dos anti - K1 2 multíparas (con 7 gestas), una con anti- Dia 1 multípara (con 5 gestas), una con anti - E en una paciente multípara (con 4 gestas) ⁴⁷.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Debido a que no se cuenta con datos referentes a la prevalencia de anticuerpos irregulares diferentes al sistema ABO, en donadores de sangre que acuden al Banco Central de Sangre en Centro Médico Nacional Siglo XXI, surge la necesidad de realizar este trabajo.

3. JUSTIFICACIÓN

En México y particularmente en el Banco Central de Sangre de Centro Médico Nacional Siglo XXI no contamos con estadísticas sobre la prevalencia con que se presentan donadores que son portadores de anticuerpos irregulares y que de manera indirecta pudieran condicionar una respuesta de aloinmunización en pacientes receptores de componentes sanguíneos principalmente plasma fresco congelado y plaquetas. Tampoco se conoce cuales son los tipos de anticuerpos que pueden estar presentes y que debido a su capacidad hemolítica pueden poner en riesgo la vida del paciente. Existen escuelas que realizan tamizaje en todos sus donadores, sin embargo las frecuencias reportadas no son estadísticamente significativas, por lo que con este estudio se demuestra la prevalencia con que se presentan estos anticuerpos en los donadores que acuden al Banco Central de Sangre de CMN Siglo XXI, tipos de anticuerpos y se evalúa el costo beneficio de realizar el tamizaje de forma rutinaria en todos los donadores.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Conocer la prevalencia de los anticuerpos irregulares diferentes al sistema ABO y su importancia en padecimientos hemolíticos por transfusión, así como la frecuencia de estímulos antigénicos previos a su formación, clase de anticuerpo y así poder demostrar la importancia de su estudio rutinario en Banco de Sangre, antes de cualquier transfusión de hemoderivados.

4.2 Objetivos Particulares

5. Determinar la prevalencia de anticuerpos irregulares en donadores que acuden al Banco Central de Sangre de CMNSXXI.
6. Determinar la prevalencia de anticuerpos fríos y calientes.
7. Determinar la prevalencia de estímulos antigénicos previos a su formación.
8. Evaluar el costo-beneficio de su estudio rutinario en base a los resultados obtenidos.

6. HIPÓTESIS

La prevalencia de anticuerpos irregulares diferentes al sistema ABO en donadores de sangre que acuden al Banco Central de Sangre de Centro Médico Nacional Siglo XXI será igual o mayor al reportado a nivel mundial.

7. MATERIAL Y MÉTODOS

7.1 Diseño del estudio

Se realizó un estudio con las siguientes características:

- Por el control de la maniobra es un estudio observacional.
- Por la captación de la información es retrospectivo.
- Por la medición en el tiempo y dirección es transversal.
- Debido a que no se cuenta con grupo control es un estudio descriptivo.

7.2 Universo de Trabajo

Se reunió un total de 1000 muestras de donadores que asistieron de manera voluntaria al Banco Central de Sangre de CMN Siglo XXI durante el mes de mayo y junio del 2013, los datos necesarios para el estudio fueron recabados de la historia clínica que se realiza de manera habitual en la valoración de los donadores.

7.3 Descripción de las Variables

7.3.1 Variables Dependientes

Variable	Categoría	Escala	Unidad	Definición operacional
Anticuerpos irregulares	Cualitativa	Nominal	Los anticuerpos esperados a encontrar con mayor frecuencia según la literatura son: anti-Lea, anti-K anti-Dia, anti-E	Evaluación de los tipos de anticuerpos detectados por tamizaje y panel ampliado.
Especificidad de los anticuerpos encontrados	Cualitativa	Nominal	Anticuerpos fríos y calientes.	Evaluación de los tipos de anticuerpos detectados por tamizaje y panel ampliado.

7.3.2 Variables Independientes

Variable	Categoría	Escala	Unidad	Definición operacional
Embarazos	Cuantitativa	Numérica	1, 2, 3, 4,5	Evaluado con la historia clínica.
Transfusiones previas	Cuantitativa	Numérica	1,2,3	Evaluado con la historia clínica.
Sexo	Cualitativa	Nominal	Masculino Femenino	Sexo del paciente, evaluado con la historia clínica.
Edad	Cuantitativa	Numérica discreta	Años	Evaluado con la historia clínica.
Fármacos	Cualitativa	Nominal	Presente	Uso de fármacos, evaluado con la historia clínica.

7.4 Selección de la muestra

7.4.1 Tamaño de la muestra: se estudiaron un total de 1000 muestras de donadores durante mayo y junio del año en curso en el Banco Central de Sangre de Centro Médico Nacional Siglo XXI.

7.4.2 Criterios de selección:

- I. Criterios de inclusión: todo donador que acudió al banco central de sangre en el periodo señalado.
- II. Criterios de no inclusión: aquellos que resultaron con serología positiva para VHB, VHC, Chagas, Sífilis, HIV.
- III. Criterios de exclusión: componentes sanguíneos no conformes.

7.5 Procedimientos

El procesamiento de las muestras para el estudio fue el siguiente:

1. Se recabó una alícuota de suero y de eritrocitos de las muestras obtenidas en tubos para serología infecciosa de los donadores que acudieron al Banco Central de Sangre de CMNSXXI durante el mes de mayo y junio del año en curso.
2. Se asignó un número consecutivo a cada muestra. Los tubos de suero, se almacenaron en ultracogelador a -40°C hasta su procesamiento. Los tubos con eritrocitos se almacenaron en refrigeración hasta su procesamiento.
3. En el área de inmunohematología del Banco Central de CMNSXXI se realizó el tamizaje de anticuerpos irregulares con células de fenotipo conocido y tarjetas de gel de coombs de Grifols en equipo Diana y/o Wadiana.
4. De las muestras que resultaron positivas se procedió a realizar panel ampliado con células de fenotipo conocido del mismo Banco Central.

5. Se llevó a cabo un registro de los anticuerpos identificados y se correlacionó con los datos obtenidos de la Historia Clínica que recaba el Banco Central de Sangre.
6. Finalmente se elaboró el análisis estadístico, resultados y conclusiones con los datos obtenidos.

7.5.1 Técnica de Tamizaje de Anticuerpos Irregulares

7.5.1.1 Técnica en gel (Tarjetas Diana Gel COOMBS) semiautomatizado

Identificar la tarjeta del 1 al 10 (dependiendo del número de células del panel a utilizar) y con el nombre del paciente.

1. Dispensar 50 µl. de Identisera Diana en cada microtubo, (pipeta automática de 50 µl).
2. Añadir 25 µl de suero o plasma del paciente, con la pipeta de 5 -40 µl
3. Incubar 15 minutos a 37°C.
4. Centrifugar durante 10 min. a 1100 rpm.
5. Leer y anotar los resultados en la hoja control de reactivos.

7.5.1.2 Técnica automatizada en equipo Wadiana

1. Colocar todos los reactivos en el equipo Wadiana.
2. Verificar los niveles de soluciones del equipo Wadiana.
3. Colocar las muestras (suero) en el carrusel del equipo.
4. Programar el equipo con los datos del paciente, y la técnica a utilizar (determinación de anticuerpos panel-2 + AC o panel 11+AC).
5. Iniciar el equipo para su procesamiento.
6. Verificar los resultados.

7. Imprimir los resultados

Los resultados obtenidos se corroboraron en base a la tabla 1 (tamizaje con 3 células).

Tabla 1. Carta Panel para Tamizaje de Anticuerpos Irregulares de Banco Central de Sangre de Centro Médico Nacional Siglo XXI.



DIRECCION REGIONAL CENTRO
DELEGACION 37 SUR DEL DISTRITO FEDERAL
BANCO CENTRAL DE SANGRE C.M.N. SIGLO XXI UMAE HE
CARTA PANEL

	Rh-Hr					MNSs				P	Duffy		Kell		Kidd		Lewis		Diegg	
	C	D	E	c	e	M	N	S	s	P	Fy ^a	Fy ^b	K	k	JK ^a	JK ^b	Le ^a	Le ^b	Di ^a	
1 R ₁ R ₁	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-
2 R ₂ R ₂	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	
3 rr	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	
4 R ₁ r	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	
5 R ₂ r	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	-	-	
6 R ₁ R ₁	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	
7 r r	-	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	
8 R ₁ R ₁	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+	
9 R ₂ R ₂	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	
10 R ₁ R ₂	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	

Rho(D) NEGATIVO= 3 y 7
Semipanel 1 al 6

Usese para la evaluacion del Rho (D)= 4 o 5
Tamizaje de Anticuerpos usar : 2, 4 y 5

CARTA PANEL No. II - 2013

VALIDO HASTA EL 09 de Mayo de 2013

PRECAUCION: TODOS LOS PRODUCTOS DE ORIGEN SANGUINEO DEBEN SER TRATADOS COMO POTENCIALMENTE PELIGROSOS.

7.5.2 Técnica de Rastreo de Anticuerpos Irregulares con panel ampliado

Técnica en tubo.

1. Numerar 11 tubos por paciente de 10 ó 12 X 75 mm.
2. Colocar en cada tubo incluyendo el autocontrol dos gotas del suero problema usando una pipeta Pasteur.

3. Agregar en cada tubo una gota de glóbulos rojos del correspondiente frasco del panel. Ejemplo en el tubo 1, Agregue una gota de células del frasco identificado como No. 1 y así sucesivamente hasta el final. En el tubo destinado al autocontrol, colocar una gota de células del paciente en suspensión del 2-3% (4.75 ml de sol. Salina + 0.25 ml de eritrocitos).
4. Mezclar cada tubo y centrifugar a 2750 rpm durante 45 seg.
5. Observar cada tubo para detectar hemólisis en el sobrenadante. Leer la aglutinación en cruces, 4+, 3+, 2+, 1+, y anotar los resultados en la hoja control del reactivo.
6. Incubar por 15 minutos a 22°C, centrifugar a 2750 rpm durante 45 seg, leer si hay hemólisis o aglutinación y anotar los resultados con tubo en mano, en la hoja de resultados.
7. Incubar a 37°C durante 15 a 30 minutos.
8. Centrifugar 2750 rpm durante 45 seg., y leer si hay hemólisis o aglutinación y anotar los resultados.
9. Lavar todos los tubos 3 veces con solución salina fisiológica para la prueba de Coombs.
10. Agregar a cada tubo dos gotas del reactivo de antiglobulina humana poliespecífica (Coombs).
11. Mezclar, Centrifugar a 2750 rpm durante 45 seg., y leer la aglutinación y anotar los resultados.
12. Comprobar los resultados negativos, haciendo la prueba control de Coombs (con células sensibilizadas) y anotar los resultados, en la hoja control de reactivos.

Tabla 2. Carta de Panel Ampliado de Banco Central de Sangre de Centro Médico Nacional Siglo XXI. (Panel con 10 células)



DIRECCION REGIONAL CENTRO
 DELEGACION 37 SUR DEL DISTRITO FEDERAL
 BANCO CENTRAL DE SANGRE C.M.N. SIGLO XXI UMAE HE
 CARTA PANEL

	Rh-Hr					MNSs				P	Duffy		Kell		Kidd		Lewis		Diegc
	C	D	E	c	e	M	N	S	s	P	Fy ^a	Fy ^b	K	k	JK ^a	JK ^b	Le ^a	Le ^b	Di ^a
1 R ₁ R ₁	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-
2 R ₂ R ₂	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
3 rr	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-
4 R ₁ r	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-
5 R ₂ r	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	-	-
6 R ₁ R ₁	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-
7 r r	-	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-
8 R ₁ R ₁	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+
9 R ₁ R ₂	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-
10 R ₁ R ₂	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+

Rho(D) NEGATIVO= 3 y 7
 Semipanel 1 al 6

Usese para la evaluación del Rho (D)= 4 o 5
 Tamizaje de Anticuerpos usar : 2, 4 y 5

CARTA PANEL No. II - 2013

VALIDO HASTA EL 09 de Mayo de 2013

PRECAUCION: TODOS LOS PRODUCTOS DE ORIGEN SANGUINEO DEBEN SER TRATADOS COMO POTENCIALMENTE PELIGROSOS.

7.6 Interpretación de Aglutinación

El grado de aglutinación o la intensidad de la hemólisis deben anotarse, con tubo en mano, con cada lectura. Escala para la lectura de aglutinación:

1. 4+ Un botón sólido de eritrocitos, fondo claro
2. 3+ Un grumo grande y varios muy pequeños o varios grumos grandes, fondo claro
3. 2+ Varios grumos de tamaño mediano, fondo claro
4. 1+ Grumos pequeños y muchos eritrocitos libres, fondo turbio
5. 0 negativo

7.7 Preparación de Células Conocidas

Tomar varios segmentos de unidades de sangre (Concentrado eritrocitario) A1, A2, B y O Rh (D) positivos preferiblemente.

1. Marcar tubos de 12 x 75 mm con las siglas A1, A2, B y O.
2. Colocar el contenido de los segmentos en los tubos previamente identificados.
3. Verificar grupo sanguíneo ABO, Rh(D) y subgrupo de A.
4. Iniciar la fase de lavado de células de tres a cuatro veces, decantando totalmente la solución salina fisiológica (SSF) al 0.9% en cada lavado.
5. Colocar etiquetas autoadhesivas en los frascos goteros con las siglas A1, A2, B y O, fecha de preparación e iniciales de la persona que los preparó.
6. Colocar en cada frasco gotero 9.7 mL de SSF, mas 0.3 mL (6 gotas) de células empaquetadas.
7. Tapar los frascos goteros y mezclar la suspensión celular con movimientos suaves.
8. Conservar los hematíes preparados a temperatura de 1 a 6o C hasta observar evidencia de hemólisis.

7.8 Preparación de Células Sensibilizadas

Marcar un tubo de 13 x 100 mm, hasta el nivel de 6 mL, llenando con sol. salina fisiológica al 0.9 %.

1. Agregar una gota de reactivo anti-D (IgG), con el gotero en forma vertical.
2. Cubrir el tubo con papel parafinado y mezclar por inversión durante 20 veces.
3. Agregar 1 mL. de células "O" Positivo al tubo. Cubra con papel parafinado y mezcle por inversión 20 veces.

4. Incubar a 37°C, durante 30 min teniendo el cuidado de que el nivel del agua del baño maría no sobrepase el nivel de la suspensión en el tubo.
5. Lavar 4 veces con solución salina fisiológica. Preparar la solución final del 2 al 3% con solución salina, en los frascos goteros previamente identificados con una etiqueta que registre el nombre del producto y fecha de preparación.

7.9 Control de Calidad de Células Sensibilizadas

- a) Colocar en un tubo de 12 x 75 mm, una gota de reactivo de células control de Coombs (sensibilizadas), más una gota de solución salina fisiológica. Mezclar, centrifugar y leer, no debe aglutinar.
- b) Colocar en un tubo de 12 x 75 mm, una gota de reactivo de células control de Coombs, más dos gotas de reactivo de antiglobulina humana (Coombs) Mezclar, centrifugar y leer. Debe ser positivo 2+.

7.10 Análisis estadístico

Se aplicaron las siguientes pruebas:

- Medidas de tendencia central: para el análisis de las frecuencias de la población estudiada.
- Prueba de hipótesis para diferencia de proporciones en grandes muestras.
- Prueba de Fischer: para evaluar la especificidad de los anticuerpos.

7.11 Consideraciones éticas

Debido a que el donador no fue sometido a ningún procedimiento diferente a los que se realizan en el proceso de donación de sangre, no se requirió la firma de consentimiento. El proyecto consistió en emplear una técnica de detección de anticuerpos irregulares que generó conocimientos útiles para conocer las estadísticas de anticuerpos irregulares en nuestros donadores.

7.12 Recursos para el estudio

- La captación de datos y procesamiento de muestras se realizó en las instalaciones del Banco Central de Sangre de Centro Médico Nacional Siglo XXI.
- Se recabó diariamente a partir de la aprobación de este protocolo, una alícuota de suero y eritrocitos de las muestras tomadas a los donadores para el estudio de serología infecciosa, previa autorización de los jefes de servicio. Las muestras fueron almacenadas hasta su procesamiento.
- La realización de las pruebas de tamizaje y rastreo de anticuerpos irregulares se llevó a cabo en el Laboratorio de Inmunohematología del Banco Central de Sangre, en donde fueron proporcionados los recursos materiales necesarios para realizar dichas técnicas.
- La coordinación general del trabajo fue responsabilidad de la Dra. Malva Hilda Mejía Arregui y de la Dra. María Luisa Portillo López
- El análisis de resultados se realizó en sesiones conjuntas con los colaboradores del estudio.

8. RESULTADOS

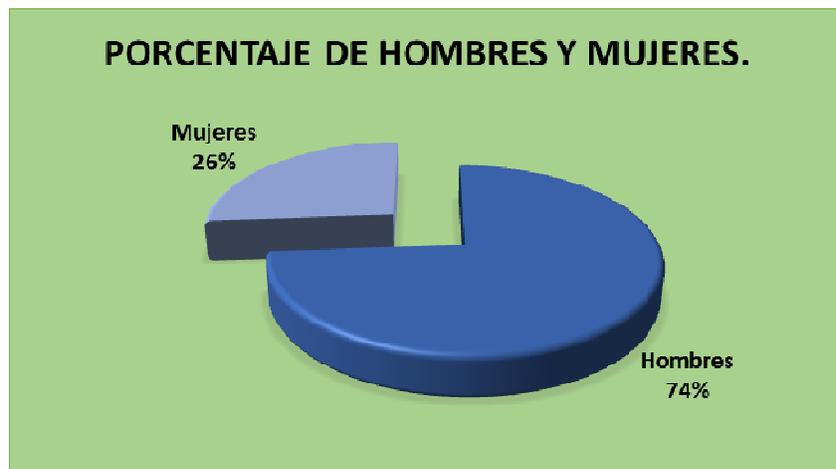
A lo largo del periodo de toma de muestra, se estudiaron un total de 1000 muestras de donadores voluntarios seleccionados de forma aleatoria que acudieron al Banco Central de Sangre de CMN Siglo XXI durante los meses de mayo y junio del año en curso. Dichas muestras fueron obtenidas de una alícuota del tubo que se emplea para el estudio de serología infecciosa, de donde se obtuvo aproximadamente 2 ml de suero y 0.5 ml de eritrocitos los cuales fueron almacenado hasta su procesamiento en el área de Inmunohematología.

8.1 Análisis de Frecuencia en el Banco Central de Sangre de CMN Siglo XXI

De los 1000 donadores que se incluyeron en el estudio, el 74% fueron hombres y el 26% mujeres. Como se muestra en la tabla y gráfica 1.

Sexo		
	Frecuencia	Porcentaje
Hombres	738	73.7
Mujeres	262	26.2
Total	1000	100.0

Tabla 1: Frecuencia y porcentaje general de donadores estudiados. Total 1000 donadores.

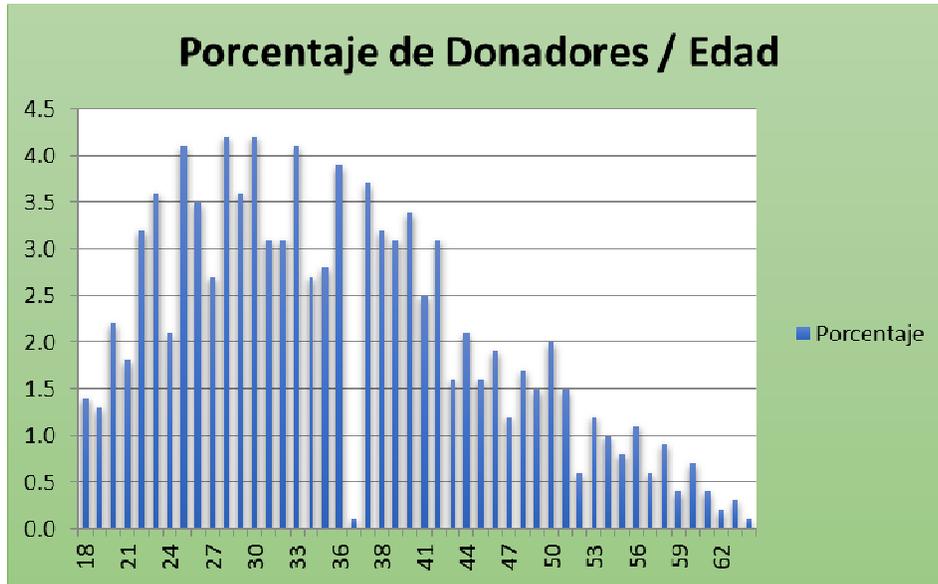


Gráfica 1: Porcentaje de hombres y mujeres estudiados. Total 1000 donadores.

Los donadores estudiados, se encontraban en un rango de edad de 18 a 65 años, el mínimo para hombres y mujeres fue de 18 años y el máximo fue de 65 años para hombres y 62 años para mujeres. La media de la edad fue de 41.7 en el total de la muestra y de 35.5 años para hombres y 33 años para las mujeres. La mediana fue de 39.5 años para el total de la población y 35 años para los hombres y 34.8 para las mujeres. Se presentaron 2 modas en el total de la muestras una para la edad de 28 años y otra para la edad de 30 años. En los hombres la moda fue de 36 años y en las mujeres fue de 30 años. Con una desviación estándar de 11.5 en el total de la población, y de 10.4 para el grupo de hombres y mujeres. Como se muestra en la tabla 2.

	Edad		
	Global	Hombres	Mujeres
Mínimo	18	18	18
Máximo	65	65	62
Curtosis	-0.3687085	-0.450521384	-0.45994203
Mediana	39.5	35	34.8
Media	41.7	35.5	33
Moda	28 y 30	36	30
DE	11.5	10.4	10.4

Tabla 2 DE: Desviación Estándar.



Gráfica 2: Porcentaje de donadores por edad. Total 1000 donadores.

En la tabla siguiente se hace referencia al sesgo obtenido global con la moda de 28 años y 30 años; en el grupo de hombres la distribución esta sesgada a la derecha ya que la media es mayor que la mediana y en el grupo de mujeres la distribución esta sesgada a la izquierda, ya que la media es menor que la mediana, esto en relación a la edad.

	Sesgo		
	Global	Hombres	Mujeres
Moda 28 años	1.19	-0.04	0.28
Moda 30 años	1.01		

Tabla 3: Sesgo en relación a la distribución por edad.

El porcentaje de donadores del grupo O fue del 71.7% del grupo A fue del 20%, del grupo B del 6.9%, y grupo AB del 1.4%. El Rh positivo fue en el 96.8% y negativo en el 3.2%.

Grupo Sanguíneo			
	Frecuencia	Porcentaje %	Porcentaje acumulado %
Grupo O	717	71.7	71.7
Grupo A	200	20.0	91.7
Grupo B	69	6.9	98.6
Grupo AB	14	1.4	100.0

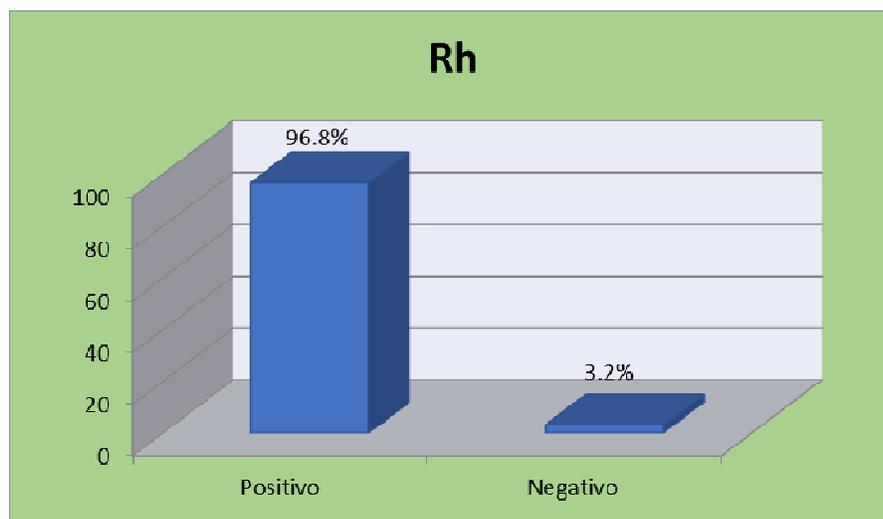
Tabla 4: Frecuencia y porcentaje de acuerdo a grupo sanguíneo. Total 1000 donadores.



Gráfica 3: Porcentaje por grupo sanguíneo. Total 1000 donadores.

Rh				
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Positivo	968	96.8	96.8	96.8
Negativo	32	3.2	3.2	100.0
Total	1000	100.0	100.0	

Tabla 5: Frecuencia y porcentaje de donadores Rh positivos y negativos.



Gráfica 4: Porcentaje de donadores Rh positivos y negativos.

Considerando la relevancia que tiene la donación de aféresis plaquetaria se obtuvo el porcentaje de donación de hombres y mujeres.

	Mujeres		Hombres	
	Frecuencia	Porcentaje %	Frecuencia	Porcentaje %
Donación de Aféresis plaquetaria	3	1.1	23	3.1
Donación de Sangre total	259	98.9	715	96.9
Total	262	100.0	738	100.0

Tabla 6: Frecuencia y porcentaje de mujeres y hombres que donaron aféresis plaquetaria.

8.2 Prueba de hipótesis para diferencia de proporciones en grandes muestras

De los 3 anticuerpos positivos se obtuvo un valor de p 0.001 para el global de la población considerando hombres y mujeres.

	Con estímulo Mujeres con embarazos	Sin estímulo Nuligestas y Hombres
	173	827
Individuos con Ac. Irregular	3	0
	p 0.001	

Tabla 7: Prueba de hipótesis para diferencia de proporciones en grandes muestras en el total de la muestra.

Considerando únicamente la población de embarazadas, con los 3 anticuerpos positivos, se obtuvo un valor de p 0.07.

Embarazadas con Ac. Irregulares				
		No. De Embarazos	Tamizaje Ac. Irregular	Mujeres con Ac. Irregular
N	Positivos	262	262	3
	Negativos	0	0	259
				p 0.07

Tabla 8: Prueba de hipótesis para diferencia de proporciones en grandes muestras en el grupo de mujeres.

El porcentaje de mujeres estudiadas con tamizaje positivo fue del 1.1% de un total de 262 donadoras.

Tamizaje Anticuerpos Irregulares				
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Negativo	259	98.9	98.9	98.9
Positivo	3	1.1	1.1	100.0
Total	262	100.0	100.0	

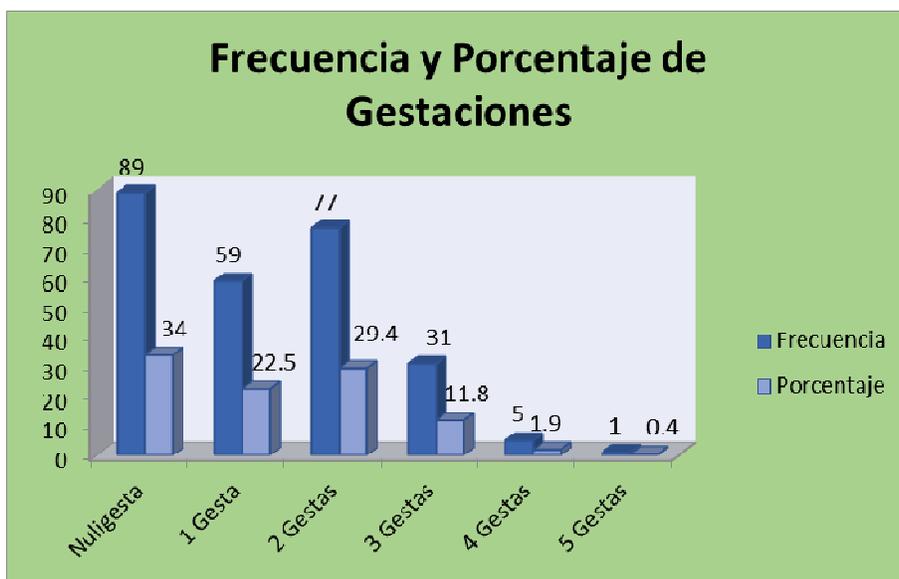
Tabla 9: Frecuencia y porcentaje del tamizaje de Anticuerpos irregulares

8.3 Análisis estadístico de mujeres donadoras en relación al número de embarazos.

Durante el periodo de muestra se estudiaron un total de 262 mujeres de las cuales 173 tenían antecedente de embarazos con 1 gesta el 22.5%, con 2 gestas el 29.4% con 3 gestas el 11.8%, con 4 gestas el 1.9%, con 5 gestas el 0.4% y nuligestas el 34%

No. De Embarazos				
	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Nuligesta	89	34.0	34.0	34.0
1 Gesta	59	22.5	22.5	56.5
2 Gestas	77	29.4	29.4	85.9
3 Gestas	31	11.8	11.8	97.7
4 Gestas	5	1.9	1.9	99.6
5 Gestas	1	.4	.4	100.0
Total	262	100.0	100.0	

Tabla 10: Frecuencia y porcentaje de embarazadas.



Gráfica 5: Frecuencia y porcentaje de gestaciones. Total 262 mujeres.

Con un total de 3 anticuerpos positivos se obtuvo un porcentaje de 1.7% con respecto a la población de mujeres con antecedente de embarazos.

Anticuerpos Irregulares Positivos						
	Con estímulo (n= 173)		Sin estímulo (n= 89)		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
No. De Embarazos * Anticuerpos presentes	3	1.7%	89	98.3%	262	100.0%

Tabla 11: Porcentaje de anticuerpos positivos en el total de mujeres con gestaciones.

Fueron 3 anticuerpos encontrados equivalente al 1.2% del total de mujeres.

Especificidad del Ac					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Anti-P	1	.4	33.3	33.3
	Anti-K	1	.4	33.3	66.7
	Anti-Lea	1	.4	33.3	100.0
	Total	3	1.2	100.0	
Perdidos	Sistema	259	98.8		
Total		262	100.0		

Tabla 12: Anticuerpos específicos del total de mujeres.

En la siguiente tabla de contingencia se demuestra el tamizaje positivo en relación al número de gestaciones.

Tamizaje Ac. Irregular * No. De Embarazos								
		No. De Embarazos						Total
		Nuligesta	1 Gesta	2 Gestas	3 Gestas	4 Gestas	5 Gestas	
Tamizaje Ac. Irregular	Negativo	89	59	76	29	5	1	259
	Positivo	0	0	1	1	1	0	3
Total		89	59	77	30	6	1	262

Tabla 13: Tamizaje de anticuerpos positivos en relación al número de gestaciones.

En la siguiente tabla de contingencia se demuestra la especificidad de los anticuerpos encontrado en relación al número de embarazos.

Tabla de contingencia Especificidad del Ac * No. De Embarazos					
		No. De Embarazos			Total
		2 Gestas	3 Gestas	4 Gestas	
Especificidad del Ac.	Anti-P	1	0	0	1
	Anti-K	0	0	1	1
	Anti-Lea	0	1	0	1
Total		1	1	1	3

Tabla 14: Anticuerpos específicos en relación al número de gestaciones.

8.4 Prueba exacta de Fischer

Con la prueba exacta de Fischer se obtuvo una especificidad de p 0.003 para el para el anti- P, de 0.02 para el anti-Lea, y de 0.1 para el anti-Kell.

8.5 Prevalencia de anticuerpos irregulares en donadores.

La prevalencia de los anticuerpos irregulares diferentes al sistema ABO en donadores que acuden al Banco Central de Sangre de CMN Siglo XXI es del 0.3%

9.DISCUSIÓN

De las 1000 muestras procesadas por tamizaje, 700 se procesaron de forma manual de las cuales 10 fueron positivas en el tamizaje y de éstas solo dos fueron positivas con el panel completo de 10 células, encontrándose el anti-P y anti- Le^a

Las 300 muestras restantes se procesaron con los equipos semiautomatizado y automatizado Diana y Wadiana empleando para el tamizaje 3 células de panel correspondiente, 20 resultaron positivas en el tamizaje y de estas solo 1 fue positiva con el panel de 10 células, encontrándose un anti-Kell.

Cabe mencionar que el panel de 10 células realizado a los 3 anticuerpos positivos fue hecho de forma manual.

La causa de haber obtenido tamizajes positivos se debió a la presencia de fibrina en las muestras por lo que se procedió a realizar un centrifugado de 2 minutos y se repitió el tamizaje siendo de esta forma negativo, el mayor número de falsos positivos fue detectado al emplear el equipo Wadiana ya que tiene una mayor sensibilidad con respecto a la técnica manual sin embargo el inconveniente que presenta es no detectar anticuerpos fríos como se demostró al encontrar un anti-P con la técnica manual.

De los eventos de aloinmunización conocidos como son antecedentes transfusionales, embarazos y antecedentes de trasplante, los tres casos de donadores con presencia de anticuerpos irregulares en nuestro estudio se asociaron a los antecedentes de embarazo.

Una donadora de 36 años de grupo A positivo que donó sangre total, con anti-P, tiene antecedente de 2 embarazos, el último en el 2001.

Otra donadora de 52 años de grupo O positivo que donó sangre total, con anti-Le^a, tiene antecedente de 3 embarazos, el último en 1988.

La siguiente donadora de 50 años de grupo O positivo que donó sangre total, con anti-Kell, tiene antecedente de 4 embarazos, el último en 1990.

10. CONCLUSIONES

El estudio realizado ha permitido actualizar la estimación de la prevalencia de anticuerpos irregulares en los donadores que acuden al Banco Central de Sangre de CMN Siglo XXI, IMSS.

De los anticuerpos encontrados dos tienen el potencial de causar reacciones hemolíticas severas sobre todo asociado a Anti-Kell y anti-Le^a, el anti-P tiene importancia clínica en aquellos pacientes que son sometidos a hipotermia como es el caso de los pacientes de cirugía cardiovascular. De lo anterior concluimos que es importante hacer una búsqueda intencionada en los donadores principalmente mujeres incluso con antecedente de dos embarazos ya que los resultados obtenidos difieren de lo que reporta la literatura en donde se menciona que es frecuente encontrar anticuerpos irregulares en multíparas con más de 3 embarazos.

Evaluar el costo-beneficio sigue siendo un punto controversial sin embargo es importante hacer notar que un paciente hospitalizado que recibe una transfusión con un componente sanguíneo que tenga presente un anticuerpo irregular puede provocar aloinmunización presentando en el peor de los escenarios una reacción transfusional sobre todo en hospitales en donde se omite la prueba cruzada menor que se requiere para la transfusión de plasmas frescos congelados y de aféresis plaquetarias. O bien que a futuro requiera de componentes fenotipados ante la presencia de prueba cruzadas incompatible, condición que está limitada a unos cuantos centros hospitalarios que cuenten con equipo y material y sobre todo de personal calificado para realizar e interpretar dichos estudios.

En relación a lo que se menciona en la literatura mundial con una incidencia de 0.3 y 2% ^{7,8} en nuestro estudio detectamos 3 casos en 1000 donadores con una prevalencia del 0.3% los individuos con antecedente de embarazos tienen una frecuencia mayor como también lo reporta la literatura. Por lo que a futuro valdría la pena estudiar de forma intencionada a una muestra representativa solo de mujeres con antecedente de uno, dos más embarazos para conocer la prevalencia específicamente en este grupo de riesgo.

11. BIBLIOGRAFIA

1. Silver H. Blood, Blood Components and Derivatives. In Transfusion Therapy. A Technical work-shop, American Association of Blood of Banks. Washington DC. AABB, 1980.p. 96-121
2. Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. Blood transfusion in clinical medicine. Tenth edition. United Kingdom: Blackwell Science; 1997. p. 97-102, 244-251.
3. Abbas AK, Lichtman AH. Inmunología celular y molecular. Quinta edición. Madrid, España: Elsevier; 2003. p. 43-63, 326-344.
4. Quijada Gamboa C. Hemoterapia de las hemorragias en cirugía. Boletín de la Sociedad Venezolana de Cirugía. 1969; 23:1.053.
5. Which is the factual basis, in theory and clinical practice, for the use of fresh frozen plasma? An International Forum. Vox Sang, 1978;35:236-435
6. Petz LD, Swisher SN. Clinical Practice of Blood Transfusion. New York: Churchill Livingstone, 1991. p. 118-127
7. Giblett. ER. Blood groups alloantibodies: an assessment of some laboratory practices. Transfusion 1998; 17:299.308.
8. Boral LI, Henry JB, The type and screen: A surgical procedures. Transfusion, 1977; 17:163-168.
9. Oberman HA. Standards for Blood Banks and transfusion services. 10th ed. Washington, DC: American Association of Blood Banks, 1981. p. 134-142
10. Bastos F. Anticuerpos irregulares clínicamente significativos y su detección pre transfusional. Hospital de Clínicas "José de San Martín" Universidad de Buenos Aires. Boletín de la Sociedad de Hemoterapia y Medicina Transfusional. 2005; 23:25-33.
11. Jones JM, Kekwich RA, Goldsmith KLG. Influence of polymers on the efficacy of serum albumin as a potentiator of incomplete Rh agglutinins. Nature (Lond), 1999; 224: 510-515.

12. Romano EL, Gudiño M, Arteaga M, Rodríguez B. Evaluación de diferentes albúminas comerciales de uso en el banco de sangre. Litotec, Caracas, 1986 p.98-113
13. Brecher ME. Technical manual. Fourteenth edition. Maryland, USA: American Association of Blood Banks; 2002. p. 253-263.
14. Linares J. La prueba cruzada incompatible. En: Inmunohematología Básica aplicada en el Banco de Sangre. Litotec, Caracas, 1976. p. 178-197
15. Mejía-Arreguá MH. Resolución de problemas transfusionales relacionados con concentrados eritrocitarios. Gac Med Mex 2004; 140 (Supl 3); S25-S34.
16. Radillo-González A. Medicina transfusional. México: Prado; 1999. p. 137-147, 266.
17. Jacobo Luna- González. Anticuerpos irregulares, su importancia en Medicina Transfusional. Rev Med Inst Mex Seguro Soc 2005; 43 (Supl 1): 17-20
18. Vives L, Aguilar J, Aguilar L. Manual de técnicas de laboratorio en Inmunohematología. Segunda edición. Barcelona, España: Masson; 1997. p. 445-471.
19. Gralnick MA. Rouleaux. A seminar on problems encountered in pretransfusion test. Washington DC. American Association of Blood Banks, 1983. p. 302-313
20. Rodríguez-Moyado H, Quintanar-García E, Mejía- Arreguá MH. El banco de sangre y la medicina transfusional. Primera edición. México: Editorial Panamericana; 2004. p. 152-160.
21. Storry JR, Olsson ML. Genetic basis of blood group diversity. Br J Haematol. 2004;126:759-71.
- 22.. Poole J. Red cell antigens on band 3 and glycophorin A. Blood Rev. 2000;14:31-43.

23. Suadican P, Hein HO, Meyer HW, Gyntelberg F. Exposure to cold and draught, alcohol consumption, and the NS-phenotype are associated with chronic bronchitis. *Occup Environ Med.* 2001;58:160-4.
24. Iwamura K, Furukawa K, Uchikawa M, Sojka BN, Kojima Y, Wiels J, et al. The blood group P1 synthase gene is identical to the Gb3/CD77 synthase gene. A clue to the solution of the P1/P2/p puzzle. *J Biol Chem.* 2003;278:44429-38.
25. Cantin G, Lyonnais J. Anti-PP1Pk and early abortion. *Transfusion.* 1983; 23:350-1.
26. Sokol RJ, Booker DJ, Stamps R. Erythropoiesis: paroxysmal cold haemoglobinuria: a clinico-pathological study of patients with a positive Donath- Landsteiner test. *Hematology.* 1999;4:137-64.
27. Garratty G. Blood group antigens as tumor markers, parasitic/ bacterial/viral receptors, and their association with immunologically important proteins. *Immunol Invest.* 1995;24:213-32.
28. Lomberg H, Hanson LA, Jacobsson B, Jodal U, Leffler H, Eden CS. Correlation of P blood group, vesicoureteral reflux, and bacterial attachment in patients with recurrent pyelonephritis. *N Engl J Med.* 1983;308:1189-92.
29. Brown KE, Hibbs JR, Gallinella G, Anderson SM, Lehman ED, McCarthy P, et al. Resistance to parvovirus B19 infection due to lack of virus receptor (erythrocyte P antigen). *N Engl J Med.* 1994;330:1192-6.
30. Flegel WA, Wagner FF. Molecular genetics of RH. *Vox Sang* 2000;78 Suppl 2:109-15.
31. . Garratty G, Telen MJ, Petz LD. Red cell antigens as functional molecules and obstacles to transfusion. *Hematology (Am Soc Hematol Educ Program).* 2002:445-62

- 32.. El Nemer W, Rahuel C, Colin Y, Gane P, Cartron JP, Le Van Kim. Organization of the human LU gene and molecular basis of the Lu(a)/Lu(b) blood group polymorphism. *Blood*. 1997;89:4608-16.
33. Hines PC, Zen Q, Burney SN, Shea DA, Ataga KI, Orringer EP, et al. Novel epinephrine and cyclic AMP-mediated activation of BCAM/Lu-dependent sickle (SS) RBC adhesion. *Blood*. 2003;101:3281-7.
34. Ballas SK, Bator SM, Aubuchon JP, Marsh WL, Sharp DE, Toy EM. Abnormal membrane physical properties of red cells in McLeod syndrome. *Transfusion*. 1990;30:722-7.
- 35.. Barnett MH, Yang F, Iland H, Pollard JD. Unusual muscle pathology in McLeod syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2000;69:655-7.
36. Newburg DS, Ruiz-Palacios GM, Altaye M, Chaturvedi P, Meinzen-Derr J, Guerrero M, et al. Innate protection conferred by fucosylated oligosaccharides of human milk against diarrhoea in breastfed infants. *Glycobiology*. 2004;14:253-63.
37. Vestergaard EM, Hein HO, Meyer H, Grunnet N, Jorgensen J, Wolf H, et al. Reference values and biological variation for tumor marker CA 19-9 in serum for different Lewis and secretor genotypes and evaluation of secretor and Lewis genotyping in a Caucasian population. *Clin Chem*. 1999;45:54-61.
38. Orstavik KH, Kornstad L, Reisner H, Berg K. Possible effect of secretor locus on plasma concentration of Factor VIII and von Willebrand factor. *Blood*. 1989;73:990-3.
39. Falk PG, Bry L, Holgersson J, Gordon JI. Expression of a human alpha- 1,3/4-fucosyltransferase in the pit cell lineage of FVB/N mouse stomach results in production of Leb-containing glycoconjugates: a potential transgenic mouse model for studying *Helicobacter pylori* infection. *PNAS*. 1995;92:1515-9.

40. Weatherall DJ, Miller LH, Baruch DI, Marsh K, Doumbo OK, Casals-Pascual C, et al. Malaria and the red cell. Hematology (Am Soc Hematol Educ Program). 2002;35:57.
41. Woodfield DG, Douglas R, Smith J, Simpson A, Pinder L, Staveley JM. The Jk(a-b-) phenotype in New Zealand Polynesians. Transfusion. 1982; 22:276-8.
42. Willardson BM, Thevenin BJ, Harrison ML, Kuster WM, Benson MD, Low PS. Localization of the ankyrin-binding site on erythrocyte membrane protein, band 3. J Biol Chem. 1989;264:15893-9.
43. Yu LC, Twu YC, Chang CY, Lin M. Molecular basis of the adult i phenotype and the gene responsible for the expression of the human blood group I antigen. Blood. 2001;98:3840-5
44. O'Donnell J, Boulton FE, Manning RA, Laffan MA. Genotype at the secretor blood group locus is a determinant of plasma von Willebrand factor level. Br J Haematol. 2002;116:350-6
45. Grunbaum BW, Crim M, Selvin S, Myhre BA, and Pace N. Distribution of gene frequencies and discrimination probabilities for 22 human blood genetic systems in four Racial Groups. Journal of forensic sciences, 25(2)1980:428-443.
46. José Luis Alcaraz-López, Ruth Bonilla-Zavala, Fenotipos eritrocitarios y protocolo para encontrar sangre compatible en pacientes con aloanticuerpos anti-eritrocitarios. Gac Méd Méx Vol.143 Supl 2, 2007
47. Frecuencia de anticuerpos irregulares fuera del sistema ABO en donadores de sangre que acuden al Hospital Infantil de México "Federico Gómez". Rivera-Estrada A, Rivera-González A, Romero-López D. Departamento de Banco de Sangre, Hospital Infantil de México "Federico Gómez", Reunión del Grupo Colaborativo Ibero Americano de Medicina Transfusional 2001 D.F., México.