

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**



FACULTAD DE QUÍMICA

**“AVANCES EN MEDICINA
TRANSFUSIONAL: AUTOMATIZACIÓN EN
INMUNOHEMATOLOGÍA”**

TESIS DE LICENCIATURA
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A:
MIRIAM ENRIQUEZ PIMENTEL



MÉXICO, D.F.



2002

EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUÍMICA



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.

JURADO ASIGNADO:

Presidente	Prof. JOSE LUIS DOMINGUEZ TORIX
Vocal	Profra. PATRICIA ELVIRA BERRON RUIZ
Secretario	Profra. EVA DELIA CALDERON GARCIDUEÑAS
1er. Suplente	Profra. ANA ESTHER AGUILAR CARDENAS
2do. Suplente	Profra. MONICA BERENICE HERAS CHAVARRIA

Asesora: E.B.C.  Delia Calderón Garcidueñas


Sustentante: Miriam Enriquez Pimentel

AGRADECIMIENTOS

A nuestra Máxima Casa de Estudios, Universidad Nacional Autónoma de México

A la facultad de Química, por permitirme ser parte de ella.

A los miembros del jurado por el tiempo que se dieron para revisar y corregir esta tesis.

A la Profesora Eva Calderón Garcidueñas por la paciencia mostrada durante la realización de este trabajo, por su orientación y consejos.

Al Banco de Sangre del Instituto Nacional de Pediatría, por la experiencia y conocimientos adquiridos.

DEDICATORIAS

Esperando no omitir a alguna persona...

A Dios, por darme el milagro de la vida y tantas bendiciones que me ha dado.

Con profundo amor y admiración a mis padres: Alfredo y Alicia, gracias por toda su comprensión, apoyo incondicional y paciencia... lenta pero segura.

A Ericka y Alicia, las quiero mucho hermanitas.

A mis amigos de toda la vida: Nelly, Elsa, Alejandra, Vero, Roberto, Carmen, Pepe y Lalo.

A Alfonsito, que nuestra amistad dure por siempre... nunca cambies.

A Silvia Ponce, Mildred y Salvador.... gracias.

Con todo mi amor para David.

AVANCES EN MEDICINA TRANSFUSIONAL: AUTOMATIZACIÓN EN INMUNOHEMATOLOGÍA.

INDICE:

I. Introducción	2
II. Generalidades	
- Sección de inmunohematología en el Banco de Sangre.	5
- Historia de la automatización en inmunohematología.	10
III. Criterios de decisión hacia la automatización.	13
IV. Evolución de las diferentes tecnologías enfocadas hacia la automatización.	
- Técnicas en fase sólida.	17
- Tecnología de geles	21
- Técnica de ELISA aplicada a inmunohematología.	25
- Prueba cruzada por computadora	27
V. Evaluación de los equipos automatizados en inmunohematología.	32
VI..Aportes de la automatización al trabajo en Banco de Sangre.	37
VII. Relación Costo-Beneficio.	39
VIII. Conclusiones	42
Referencias	43

I. INTRODUCCIÓN

A través de los tiempos, la sangre ha ejercido una especie de fascinación sobre el hombre, durante muchos siglos, este fluido era considerado como la sede del alma y de las grandes virtudes, los antiguos egipcios sometían a baños de sangre a hombres importantes, enfermos y personas de edad avanzada (1). Hacia los años 76-100 a.C. Pliny y Celsuius, dos escritores romanos describieron como los espectadores romanos se abalanzaban sobre la arena para beber la sangre de los gladiadores moribundos, y así adquirir la bravía y fortaleza de éstos. (2, 3).

Durante la edad media, muchos de estos conceptos habían cambiado y daban la sangre a beber como tónico para rejuvenecimiento y como tratamiento de varias enfermedades. Entre 1505 y 1576, con las aportaciones individuales de Hieronymus Cordannus y Magnus Pegelius, se planteó la posibilidad de una transfusión sanguínea de una persona a otra. Para 1615, Andres Livabius describió el primer procedimiento de transfusión en forma directa, quedando muchas dudas en cuanto a la práctica de la misma.(2)

Un gran avance fue el descubrimiento por Harvey en 1628, cuando este publicó un tratado sobre la circulación sanguínea, aceptándose que la sangre circulaba por todo el cuerpo, dándole vitalidad al mismo.

En 1677, Lower, físico inglés insertó un tubo de plata como puente entre la vena del paciente y la arteria de una oveja sana, al término de esta el paciente se sentía mucho mejor. En ese mismo año Jean Denis, físico de la corte de Luis XIV, al transfundir por segunda vez a un paciente, este presentó pulso aumentado, brazo enrojecido, diaforésis y dolor renal, muriendo en la tercera transfusión, estos signos y síntomas serían llamados posteriormente "Reacción transfusional de tipo hemolítico". (2,3,4,5), aunque poco tiempo después se descubrió que el paciente no había muerto debido a la transfusión practicada, la práctica transfusional queda estancada hasta que en 1818, el obstetra James Blundell realiza múltiples transfusiones, lo más importante fue que se empleaba únicamente sangre humana, por lo que se le considera como el padre de la transfusión moderna.(2,4)

En 1901, la transfusión sanguínea da un gran paso con el descubrimiento del sistema ABO, descrito por el anatomista y químico austriaco Karl Landsteiner y del fenotipo AB descrito por De Castello y Sturli en 1902.(6) Es en 1907 cuando Ottenberg realiza la tipificación ABO antes de la transfusión, señalando que esta prueba era importante para el éxito de la misma; en el mismo año, Hektoen indica que el riesgo de reacción transfusional puede evitarse si el donador y paciente son del mismo grupo sanguíneo y si los eritrocitos del donador no aglutinaban en presencia del suero del paciente y si los eritrocitos del paciente no aglutinaban en presencia del suero del donador, (inicio de la prueba cruzada). Es en los años 40's cuando se promueve la práctica de la prueba cruzada antes de realizar la transfusión sanguínea.(7)

El sistema Rh después del ABO es el más importante de los sistemas de grupos sanguíneos, por sus implicaciones clínicas en la transfusión sanguínea y en la enfermedad hemolítica del recién nacido, en 1939, con la publicación por Levine y Stetson de su histórico trabajo describiendo como una madre que terminaba de dar a luz un feto muerto y macerado, había desarrollado una severa reacción hemolítica por la transfusión de sangre proveniente de su esposo y además, del 80% de las personas de grupo O con los cuales se cruzó. Un segundo hallazgo, esta vez experimental, se produce en 1940, como resultado de las experiencias en animales, de Landsteiner y Wiener. Ellos inmunizaron conejos y cobayos con glóbulos rojos de monos *Macacus rhesus*, obtuvieron un suero que aglutinaba los glóbulos rojos de los monos rhesus y del 85% de la población blanca de Nueva York. Las personas cuyas células eran aglutinadas por el nuevo suero antirhesus fueron clasificadas como Rh positivo y el restante 15% como Rh negativo.

Actualmente, la tipificación de ABO/Rh, búsqueda e identificación de anticuerpos y pruebas cruzadas forman parte de lo que se conoce como pruebas de compatibilidad. Durante mucho tiempo, la técnica de hemoaglutinación en tubo ha sido la más empleada para realizar dichas pruebas, sin embargo las limitaciones de esta han impulsado a la búsqueda de otros métodos como alternativa a las convencionales. Como ejemplo, la técnica en gel y las pruebas en fase sólida son innovaciones tecnológicas que ofrecen algunos beneficios con respecto a la aglutinación en tubo; pero indudablemente la mayor ventaja es que facilitan el cambio de las técnicas manuales al empleo de la automatización en el Banco de Sangre, que en los últimos años ha sido uno de los principales avances en la Medicina Transfusional.

Las ventajas o beneficios que ofrece un equipo modular o totalmente automatizado son varios, pero indudablemente la suma de ellos se traduce en la obtención de resultados confiables y oportunos, haciendo de la transfusión sanguínea un procedimiento más seguro para el paciente; es por esto que hoy en día la automatización se presenta como una opción para aumentar la productividad y calidad en el servicio de Medicina Transfusional.

-

II. GENERALIDADES

SECCIÓN DE INMUNOHEMATOLOGÍA EN EL BANCO DE SANGRE

La sección de inmunohematología dentro del Banco de Sangre tiene como función realizar las pruebas de compatibilidad, las cuales consisten en la selección de componentes sanguíneos que tengan una sobrevivencia aceptable al ser transfundidos y no ocasionen daños al paciente o receptor. Si se efectúan de manera adecuada, las pruebas DE COMPATIBILIDAD establecen la compatibilidad ABO-Rh entre el paciente y el donador, así como la búsqueda y detección de anticuerpos clínicamente significativos. (8)
Dentro de los procedimientos obligatorios de los estándares internacionales, establecidos como pretransfusionales, se encuentran los siguientes: (9)

1. Solicitud, identificación y recolección de muestra de sangre del paciente.
2. Tipificación de grupo sanguíneo y Rh del receptor.
3. Pruebas de detección de anticuerpos eritrocitarios empleando suero del receptor.
4. Prueba cruzada.
5. Comparación entre resultados actuales y el historial de pruebas pretransfusionales previas.
6. Selección de componentes de tipos ABO y Rh apropiados para el receptor.
7. Reidentificación del paciente previa transfusión sanguínea.

1. SOLICITUD, IDENTIFICACIÓN Y RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA SANGUÍNEA:

De acuerdo a la NOM (10) para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos, la solicitud de transfusión sanguínea debe contener los datos siguientes:

- a) Datos de identificación del establecimiento o unidad médica que hace la solicitud. (Razón social, domicilio, teléfono).
- b) Nombre completo y edad del receptor.
- c) En caso de conocerse, hemoclasificación de grupo ABO y Rh(D), valores de hemoglobina y hematocrito del paciente, así como antecedentes transfusionales, embarazos, inmunización materno fetal o de reacciones adversas que se hubieran presentado y medicamentos administrados.
- d) Sexo.
- e) Diagnóstico de certeza o probabilidad, así como el motivo de la indicación transfusional.
- f) En caso de pacientes hospitalizados: número de expediente, cama y servicio que solicita la transfusión.
- g) Señalar el producto a solicitar incluyendo cantidad de unidades, volumen o características requeridas.
- h) Fecha y hora en que se realizará la transfusión y de ser necesario, el señalamiento de la urgencia.
- i) Fecha, nombre completo y firma del médico que indica la transfusión.

Así mismo, la solicitud debe ser legible, de preferencia escrita a máquina o en computadora.

Las pruebas pretransfusionales deben ser efectuadas en suero y no deben ser tomadas de líneas de infusión para evitar contaminación con sustancias que puedan interferir con las pruebas de compatibilidad. Deben ser extraídas usando una técnica cuidadosa para evitar la hemólisis mecánica, ya que la hemólisis causada por la activación del complemento en la reacción antígeno-anticuerpo puede ser enmascarada. El volumen adecuado de muestra para realizar las pruebas de compatibilidad es de 5 mL, y no deben ser recolectadas en tubos separadores de suero, ya que el gel que contienen dificulta la obtención de los eritrocitos de la muestra. (11)

La extracción de la muestra de sangre del receptor adecuadamente rotulada es decisiva para una transfusión segura, ya que la causa más frecuente de reacciones adversas transfusionales, es la falta o incorrecta identificación del paciente, de su muestra de sangre y de la muestra de sangre del donador.(12).

El personal de Banco de Sangre al recibir la muestra debe confrontar la información del tubo y la solicitud; si existen discrepancias deberán ser resueltas antes de aceptar el ingreso (solicitudes de sangre con datos incompletos, muestras sin identificación o membretes equivocados requerirán de una nueva toma de muestra).(13) Es inaceptable corregir una muestra incorrectamente rotulada. Cada laboratorio debe establecer políticas y procedimientos al respecto.(14) Una vez confrontados los datos se asignará un número progresivo de acuerdo a los registros de Banco de Sangre.

Si el paciente tiene antecedentes de embarazo o transfusión durante los tres meses precedentes, o si los antecedentes son inciertos o no están disponibles, las pruebas de compatibilidad se deben llevar a cabo en muestras de sangre extraídas dentro de los tres días previos a la transfusión. Esto es para asegurar que la muestra usada para la prueba refleje el estado inmunológico actual del paciente debido a que una transfusión o embarazo recientes pueden estimular la producción de anticuerpos inesperados.(15)

Las muestras de sangre del donador y receptor deben almacenarse (2-4 C) al menos durante 7 días después de realizada la transfusión. La conservación de muestras hace posible la repetición o la realización de pruebas adicionales si se presenta una reacción transfusional. (16)

2. TIPIFICACIÓN DE GRUPO SANGUÍNEO Y Rh DEL PACIENTE O RECEPTOR:

ABO

La tipificación sanguínea del paciente debe incluir la prueba directa y prueba inversa. Se emplean reactivos hemoclasificadores para determinar antígenos del sistema ABO (prueba directa) y los anticuerpos regulares anti-A y anti-B y anti AB en suero utilizando eritrocitos con antígeno A1, A2, B y O (prueba inversa). En niños menores de cuatro meses, la prueba inversa es innecesaria, ya que en estos pacientes el desarrollo de anticuerpos naturales todavía es inmaduro.

Cualquier discrepancia que se presente entre las pruebas directa e inversa, o en la determinación del grupo sanguíneo actual con alguna reportada anteriormente debe

resolverse antes de iniciar las pruebas cruzadas. Si la discrepancia no se resuelve antes deberá transfundirse grupo "O". (18)

Sistema Rh

La tipificación de Rh se realiza usando el reactivo anti-D. Para detectar falsos positivos es importante correr paralelamente con la prueba Rh una prueba control usando un reactivo inmunológicamente inerte, dicho control contiene los mismos aditivos que están en el reactivo anti-D, pero no contiene anticuerpos anti-Rh, lo que permite demostrar que el eritrocito no tenía previamente IgG adherida en su superficie, si el control es positivo el resultado debe ser invalidado.(19) Cuando la prueba sea negativa, se investigará la expresión leve (Du), con la prueba de antiglobulina humana. Los tipos Rh(D), incluyendo el antígeno D expresado débilmente (Du) se clasifican como positivos y los restantes como negativos. En caso de que el grupo Rh no pueda ser establecido y la transfusión sea urgente se empleará concentrado eritrocitario O negativo.(20)

3. PRUEBAS DE DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ERITROCITARIOS EMPLEANDO SUERO DEL PACIENTE:

El objetivo de ésta prueba es detectar la presencia de anticuerpos clínicamente significativos fuera del sistema ABO, es decir, anticuerpos que son reactivos a 37 C y/o en la prueba de antiglobulina, y que causen reacciones transfusionales adversas al paciente, o un acortamiento en la sobrevivencia de las células transfundidas.(21)

De forma ideal, la detección de anticuerpos debe realizarse rutinariamente en todos los receptores, a pesar de que la Legislación Mexicana no la establezca como obligatoria y de ningún modo sustituyendo a la prueba cruzada.

Los métodos empleados en la detección de anticuerpos irregulares pueden incluir 2 o 3 células rojas de escrutinio (semi-panel), los cuales deben contener la mayoría de los antígenos representativos de la población en donde se realiza. Cuando un anticuerpo irregular es detectado la especificidad debe ser definida mediante la confrontación del suero

del paciente con células totalmente tipificadas, (identificación con panel). Estos eritrocitos se utilizan para detectar anticuerpos irregulares tanto en pacientes como en donadores.

La prueba para la detección de anticuerpos antes de realizar la prueba cruzada permite un reconocimiento e identificación temprana de anticuerpos clínicamente significativos, lo que permite disponer de más tiempo para seleccionar unidades que carezcan del antígeno correspondiente al anticuerpo detectado.(23)

4. PRUEBAS CRUZADAS:

La prueba cruzada forma parte de las pruebas de compatibilidad y tiene como función principal:

- a) Verificar la compatibilidad ABO-Rh entre paciente y donador.
- b) Detectar la presencia de anticuerpos en el suero del paciente que pudieran reaccionar con antígenos eritrocitarios del donador.

La prueba cruzada tiene entonces como objetivo asegurar la compatibilidad sanguínea entre paciente y donador, esta incluye técnicas que permiten demostrar la ausencia de anticuerpos específicos regulares e irregulares de importancia clínica en el suero del receptor (prueba mayor, que consiste en enfrentar suero del receptor con eritrocitos del donador) y anticuerpos en el suero del donador contra los eritrocitos del receptor (prueba menor, que consiste en enfrentar suero del donador con eritrocitos del receptor). (22)

Esta prueba puede dividirse en tres fases: (24)

FASE I: (Centrifugación inmediata o prueba rápida), en la cual se establece la compatibilidad del sistema ABO.

FASE II: (37 C), la prueba continúa con una incubación a 37 C utilizando el medio de reacción que se haya elegido.

FASE III: (Antiglobulina), consiste en agregar, posterior a la incubación el reactivo de Coombs mono específico (anti-IgG) o poliespecífico (anti-IgG+Anticomplemento).

Se debe incluir un autocontrol, que contenga suero del paciente + solución de eritrocitos del mismo al 5%, que se tratará bajo las mismas condiciones que la prueba cruzada. La ausencia de hemólisis o aglutinación en todas las fases de la prueba indican una prueba cruzada negativo y por lo tanto, compatibilidad sanguínea y selección del producto adecuado

para la transfusión. La presencia de hemólisis o aglutinación en cualquier fase de la prueba, indica una prueba cruzada positiva, por lo tanto existe incompatibilidad sanguínea y el paquete sanguíneo es inadecuado para la transfusión.

HISTORIA DE LA AUTOMATIZACIÓN EN INMUNOHEMATOLOGÍA

Las primeras descripciones de aglutinación al combinar eritrocitos de un individuo con suero de otro son realizadas por Landois en 1875, la explicación asociada a estos resultados era que al menos una de las muestras presentaba alguna anomalía. En 1898, Bordet hace mención de la antigenicidad de los eritrocitos; se continúan los estudios en este campo y es en el año de 1900 cuando Landsteiner describe por primera vez la aglutinación de los eritrocitos humanos, un año después separa el suero de la sangre y los eritrocitos son diluidos en solución salina, cada suero era mezclado con los eritrocitos propios y de otras muestras, de estos experimentos Landsteiner concluye que estas reacciones de aglutinación pueden asociarse a la presencia o ausencia de dos antígenos aglutinables, el A y el B, así como la inexistencia de estos en un tercer grupo denominado O. También demuestra la presencia de anticuerpos naturales dirigidos contra el antígeno que no portan sus eritrocitos y postula que "los antígenos y anticuerpos correspondientes no pueden fisiológicamente coexistir en un mismo individuo", esto se conoce como regla de Landsteiner, estableciéndose así las bases inmunológicas de las reacciones transfusionales. En 1907 Hektoen puntualiza el posible daño de las isohemolisinas durante la transfusión de sangre, mismo que puede ser evitado mediante la selección del donador aplicando la regla de Landsteiner, esto es, que sea del mismo grupo del receptor. Esfuerzos similares son iniciados por Ruben Ottenberg que se culminan con la aplicación de la prueba cruzada. Es en el año de 1954 en que la Asociación Americana de Bancos de Sangre establece como obligatoria las pruebas pretransfusionales, que actualmente incluyen la determinación de grupo sanguíneo (ABO) y Rh, búsqueda e identificación de anticuerpos irregulares y pruebas cruzadas. (26)

En los últimos 90 años, la hemoaglutinación en placa o tubo ha permanecido como el método más empleado en inmunohematología para detectar la interacción de anticuerpos

con antígenos eritrocitarios, la aceptación universal del método de hemoaglutinación se debe a su simplicidad y versatilidad, sin embargo la mayor desventaja de esta técnica es la subjetividad en cuanto a su interpretación, ya que esta depende en gran medida de la experiencia y habilidad del personal de Banco de Sangre que la realiza, la falta de un punto final o interpretación objetiva en las técnicas de hemoaglutinación, ya sea en placa o en tubo, ha sido una de las razones para la búsqueda y el empleo de nuevas metodologías e instrumentos que mejoren la eficiencia y confiabilidad en las pruebas inmunohematológicas pretransfusionales, así, uno de los mayores avances en décadas pasadas ha sido el empleo de la automatización en Banco de Sangre. (27)

El primer equipo automatizado empleado en Banco de Sangre fue diseñado en 1963 por la firma Technicon, en este sistema de flujo continuo los eritrocitos de la muestra se enfrentan a anticuerpos (anti-A, anti-B, anti-H, anti-A1, etc;) y al mismo tiempo, el suero de la muestra se enfrenta a eritrocitos fenotipados (A, B, O, Rh(+), Rh(-)), estas reacciones se llevan a cabo en sitios diferentes, el equipo cuenta con un dispositivo que permite la decantación de los eritrocitos libres o aglutinados en un papel filtro, lo que facilita la interpretación del resultado, aunque éste equipo aún no cuenta con la lectura electrónica de la reacción de hemoaglutinación, se disminuyen notablemente los errores en la tipificación de grupo sanguíneo y Rh, muchos equipos de este tipo se siguen empleando, y actualmente con algunas modificaciones la firma Technicon fabrica el equipo mencionado anteriormente como Autogruper 16.(17, 25)

Otro avance se dio en 1970 con la implementación de la lectura fotométrica de la reacción, el equipo Groupomatic se fabricó en 1971, este sistema determina grupo sanguíneo (ABO), Rh, búsqueda e identificación de anticuerpos y además interpreta e imprime el resultado gracias al uso de equipo computarizado. Posteriormente el equipo Groupomatic se modifica para poder emplearse en Bancos de Sangre de menor escala con el nombre de Groupomatic MG 50, la parte importante del equipo es el sistema de interpretación automatizada de las reacciones de aglutinación, la cual se determina por la diferencia de las densidades ópticas entre el área periférica y el área central de cada cubeta de reacción. La lectura automatizada de la reacción y la interpretación e impresión de los resultados, son avances que nos permiten eliminar la subjetividad en la interpretación del resultado y disminuyen los errores en cuanto a la transcripción de los mismos.(28)

El último avance en inmunohematología es el diseño de pruebas en fase sólida para la tipificación de antígenos eritrocitarios (ABO y Rh) y búsqueda e identificación de anticuerpos irregulares. Uno de los métodos de esta prueba consiste en la adsorción de anticuerpo específico a una superficie (generalmente de material plástico), posteriormente se agrega la suspensión de eritrocitos de la muestra. El resultado se obtiene usando un espectrofotómetro, interpretando la hemólisis al agregar agua destilada o agregando un sustrato cromogénico.(29)

A partir de 1980 se incorporó la tecnología de microplacas a la automatización en inmunohematología. El principio básico de estos sistemas automatizados es similar a la técnica manual de hemoaglutinación en microplaca, pero con la ventaja de contar con densitómetros para leer la microplaca de hemoaglutinación. Los métodos en microplaca se consideran más económicos porque requieren de cantidades mínimas de reactivo (microlitros) y también permiten realizar un gran número de muestras en una sola microplaca. Los equipos diseñados cuentan con dispositivos que depositan muestra y reactivos en los pozos de la microplaca, además de tener un sistema de lectura de código de barras que permite la identificación de la misma, con lo que se eliminan los errores debidos a la identificación incorrecta de la misma; el sistema está acoplado a una computadora, la cual interpreta, imprime y almacena los resultados obtenidos. Ejemplo de éstos sistemas son el equipo Microbank y Olympus 1700.(30, 59)

La automatización de un sistema de microplacas es básicamente modular, el primer paso consiste en la dispensación de la muestra y reactivos, los pasos intermedios, tales como lavado y centrifugación son realizadas manualmente y el último paso que consiste en la lectura es generalmente automatizado, de esta forma es posible que cada Banco de Sangre diseñe o "construya" su propio sistema a partir de varios componentes dependiendo de las necesidades de este. Algunas compañías tienen en el mercado el equipo semi o completamente integrado.

El concepto modular ofrece la ventaja de que la automatización en Banco de Sangre puede ajustarse dependiendo de las necesidades del mismo, y el camino hacia la automatización total puede darse gradualmente, es por esto que en la actualidad el

sistema modular es una de las tendencias actuales en cuanto a automatización en inmunohematología se refiere.(31)

II. CRITERIOS DE DECISIÓN HACIA LA AUTOMATIZACIÓN

Durante los últimos 35 años, la automatización ha sido considerada como una opción para aumentar la productividad en Banco de Sangre. Actualmente, existen en el mercado equipos automatizados que cuentan con características propias y ventajas que les hacen variar en cuanto a su costo y que pueden adecuarse a un Banco de Sangre en específico, aumentando la productividad y mejorando la calidad de atención al paciente(28), pero ¿cuáles son los pasos a seguir para decidir si implementar o no la automatización en Banco de Sangre?, y si se ha tomado la decisión de automatizar ¿cómo elegir el equipo o sistema adecuado?, la decisión de automatizar un proceso en el Banco de Sangre debe incluir las siguientes etapas o pasos:

A. Establecer metas u objetivos: El primer paso a seguir es que cada Banco de Sangre establezca las metas u objetivos a cumplir y en base a esto decidir si la implementación de la automatización va a ayudar a lograr los objetivos propuestos.(33)

Aquí es importante determinar exactamente para que fin se requiere el instrumento que se desea adquirir y hacer una preselección de los equipos, eliminando aquellos que no satisfagan una o más de estas necesidades.

B. Evaluación de recursos: Es importante que el Banco de Sangre realice una evaluación de los recursos con que cuenta para elegir correctamente el equipo o sistema automatizado, entre estos recursos se consideran los siguientes:

-Económicos: Es de vital importancia conocer los recursos económicos con que cuenta el Banco de Sangre para elegir el equipo o sistema automatizado cuyo costo en sí no exceda del presupuesto disponible, tomando también en cuenta el gasto económico que involucra su funcionamiento correcto.(33). En este punto es importante que antes de considerar cualquier equipo hay que conocer el alcance económico real del Banco de Sangre, ya que este aspecto puede limitar el marco de decisión.

-Instalaciones, espacio: Uno de los factores a considerar para asegurar el funcionamiento correcto de un equipo automatizado, es que el espacio e instalaciones sean las adecuadas. Una vez que se esté considerando la adquisición de un sistema en específico, es necesario que el fabricante entregue por escrito un protocolo en donde se especifique los requerimientos del equipo, tales como espacio, electricidad, agua y temperatura. En base al protocolo entregado, el Banco de Sangre considerará o determinará si la adquisición del equipo automatizado a elegir es el adecuado para el espacio que se haya designado permanente y si se cuenta con las instalaciones adecuadas o en su caso realizar los cambios pertinentes.(47)

C. Búsqueda de alternativas: Cada modelo de equipo automatizado cuenta con características propias y es una alternativa de elección, por esta razón es indispensable contar con información suficiente de cada sistema para elegir el equipo que cumpla con los requerimientos del Banco de Sangre, y no cometer el error de invertir recursos en un sistema que al final no cumpla con las metas u objetivos propuestos, en cuanto a información, esta incluye la siguiente:

-Información técnica-científica: Contando con esta información actualizada, se conocen los avances tecnológico-científicos, en cuanto a automatización se refiere y en base a esta buscar en el mercado el equipo que cuente con estos avances.

-Información de mercado: Es de gran utilidad, ya que nos da a conocer los equipos que están disponibles, las ventajas y desventajas con respecto a otros, así como el costo del mismo.

Contar con información suficiente de cada equipo nos permite comparar objetivamente las diferentes alternativas para poder elegir la que más convenga a las necesidades y objetivos planteados por el Banco de Sangre, es importante que la información técnica-científica, de

mercado, así como la evaluación de recursos esté actualizada para llevar un control del proceso a automatizar y hacer los cambios convenientes cuando estos sean necesarios.(47)

Tomar la decisión de implementar la automatización en inmunohematología y elegir el equipo adecuado es fácil si se establecen los objetivos a cumplir y si se cuenta con la información suficiente. Básicamente, las fases o etapas del proyecto de adquisición para un equipo automatizado son las siguientes (45):

DEFINICIÓN DEL PROYECTO: Adquisición de un sistema de análisis después de evaluación previa de los puntos débiles y fijación del concepto esperado.

PRIMERA FASE

Primer material informativo

Selección previa de aparatos

Primer cálculo de gastos

Primer plano de financiación

Situación del mercado, información por parte de los usuarios.

SEGUNDA FASE

Material informativo detallado

Especificación de costos, plan de financiación

Selección de aparatos

Preparar la integración del equipo al Banco de Sangre

TERCERA FASE

Documentación de instalaciones de prueba

Comparación de los aparatos

Evaluación de los aparatos

Introducción de las medidas de integración del equipo

CUARTA FASE

Configuración del contrato de compra

Medidas de organización para la integración permanente del equipo

Plazo de entrega

QUINTA FASE

Periodo de capacitación

Integración

Servicio

IV. EVOLUCIÓN DE LAS DIFERENTES TECNOLOGÍAS ENFOCADAS HACIA LA AUTOMATIZACIÓN

Las pruebas inmunohematológicas tradicionales se basan en la detección de aglutinación en fase líquida. Las reacciones antígeno-anticuerpo en los eritrocitos son generalmente detectadas por la prueba de aglutinación, ya sea en medio salino, de baja fuerza iónica o macromolecular y con o sin previo tratamiento enzimático de los eritrocitos. Uno de los factores que afectan la confiabilidad de las pruebas de aglutinación, es la interpretación subjetiva del resultado, especialmente cuando la reacción de aglutinación se manifiesta débilmente. Para aumentar la confiabilidad, la reacción debe ser leída por personal con experiencia y en un periodo corto de tiempo, debido a estas desventajas se han desarrollado otras técnicas, las cuales dan un resultado objetivo y entonces permiten la estandarización de resultados. (54). Algunas de estas técnicas son las siguientes:

TECNOLOGÍA DE MICROPLACAS (44)

En 1960, la tecnología de microplacas se aplicó al Banco de Sangre, las modificaciones subsecuentes a la técnica inicial hacen de esta una tecnología confiable y reproducible en la actualidad. Una microplaca puede considerarse como una placa compacta de plástico rígido o flexible que contiene 96 pozos de reacción dispuestos a lo largo de ocho filas horizontales y doce verticales, el fondo del pozo puede tener forma de "V" o "U", siendo esta forma la más empleada en inmunohematología, cada pozo de reacción puede contener de 200 a 300 microlitros. La técnica de microplacas puede emplearse en inmunohematología para la determinación de:

1. Grupo ABO (prueba directa e inversa) y Rh
2. Búsqueda y detección de anticuerpos
3. Fenotipo

En el caso de la determinación de grupo y Rh la técnica en microplaca consta de los siguientes pasos:

1. Dispensación de muestra y reactivos
2. Agitación
3. Centrifugación
4. Agitación para resuspender el botón celular
5. Lectura e interpretación del resultado.

Para la búsqueda y detección de anticuerpos:

1. Dispensación de muestra y reactivos
2. Agitación
3. Incubación
4. Centrifugación, decantación
6. Lavado

Interpretación del resultado: Una reacción positiva es igual a la aglutinación que aparece en el tubo, en la reacción negativa las células están suspendidas en el pocillo, esto en el caso de pocillos con fondo "U".

Cuando el fondo del micropozo de reacción tiene forma "V", en una reacción negativa se produce una "caída" de los eritrocitos en forma de lagrima al resbalar por el pocillo, en las reacciones positivas aparece un botón firme en el centro del pocillo.

Por otro lado, otro avance en esta tecnología se dio en 1976, cuando se encontró que una monocapa de eritrocitos puede inmovilizarse en material plástico y en base a esto detectar reacciones antígeno-anticuerpo, siendo este el fundamento para las técnicas en fase sólida, en las que el antígeno o anticuerpo se adhieren al fondo del pozo de la microplaca.

En esta técnica, el antígeno o el anticuerpo se inmovilizan en una fase sólida; los métodos de inmovilización se basan generalmente en la adsorción pasiva del anticuerpo o antígeno sobre la superficie del material plástico. Las microplacas de poliestireno son las más comúnmente usadas, aunque también pueden ser empleadas microplacas de propileno o polivinil. (33)

En el caso de tipificación de antígenos eritrocitarios se efectúa la inmovilización específica de anticuerpos, como anti-A o anti-B en los pozos de las microplaca. Los eritrocitos se tratan enzimáticamente antes de la prueba para aumentar la interacción antígeno-anticuerpo, una suspensión diluida de los eritrocitos previamente tratados se agregan a los pozos cubiertos con el anticuerpo, después de la adición de reactivos adecuados y de un periodo de incubación, la microplaca se centrifuga y se observa para su interpretación. Una reacción

positiva se manifiesta por la adhesión de los eritrocitos en toda la superficie del pozo; por otro lado, la reacción es negativa si no se presenta la adhesión de los eritrocitos, y estos se observaran como un botón en el fondo del pozo después de la etapa de centrifugación.(34)

La técnica de adhesión en fase sólida se emplea más para la detección de anticuerpos que para la detección de antígenos. La prueba para la detección de anticuerpos anti-A o anti-B requiere de la inmovilización de una monocapa de eritrocitos A1, B o antígenos purificados. El suero problema se añade al pozo indicado, posteriormente se incuba y decanta. Los eritrocitos pretratados enzimáticamente A1, B o AB (células indicadoras) se agregan a cada pozo y la microplaca se centrifuga. Las reacciones positivas se manifiestan por la adherencia de los eritrocitos indicadores ya sea anti-A o anti-B que se hayan unido a los anticuerpos previamente unidos a la monocapa. La reacción puede visualizarse como un "sandwich" de dos capas de antígenos ligadas entre sí por un anticuerpo.(35)

En cuanto a la interpretación del resultado, las reacciones negativas se manifiestan por la presencia de un botón en el fondo del pozo de la microplaca (lo que indica la ausencia de adhesión). La formación de una monocapa por parte de los eritrocitos indicadores indica una reacción positiva; además de la observación a simple vista esta monocapa, el resultado positivo de la prueba puede interpretarse mediante la presencia de hemólisis de los eritrocitos indicadores al agregar agua destilada al pozo de reacción.(35)

Los métodos para la detección de aloanticuerpos IgG también emplean la inmovilización de una monocapa de eritrocitos con antígenos eritrocitarios conocidos. Se agregan el suero problema y un medio de baja fuerza iónica a cada pozo; la mezcla se incuba a 37 C y se lava con solución salina para retirar el anticuerpo que no reaccionó (anticuerpo libre). Además de la detección de aloanticuerpos de tipo IgG, la técnica en fase sólida puede emplearse para efectuar pruebas cruzadas en la sección de inmunohematología en Banco de Sangre, en la cual los eritrocitos sensibilizados se adhieren a la monocapa inmovilizada de anti-IgG. (36)

La aceptación y el empleo de la tecnología de microplacas y de la técnica en fase sólida se debe principalmente a que son técnicas sencillas de realizar pero sobre todo porque permiten la posibilidad de automatizar o semiautomatizar el proceso.

Los problemas que se presentaron para automatizar el método estaban enfocados principalmente a la lectura e interpretación del resultado y a la transferencia del resultado a una unidad central, sin embargo estas dificultades se solucionaron y actualmente el método puede semiautomatizarse o automatizarse totalmente.

Un proceso totalmente automatizado requiere del equipo siguiente: Centrifuga, agitador de microplacas, incubador, dispensador-pipeteador automático, lector de microplacas y programa informático para la interpretación del resultado. En lo que se refiere a la lectura de la reacción existen distintos lectores automatizados en el mercado. Poseen un fotómetro que realiza unas lecturas en base a un patrón en el que se distingue la aglutinación de la suspensión de eritrocitos.

El fundamento de la lectura se basa en el grado de transmisión de luz a través de cada pocillo, que será distinta si la luz atraviesa una suspensión homogénea o si existen aglutinados. Para ello se efectúan múltiples lecturas en cada pocillo. La interpretación del resultado depende de la gráfica del conjunto de lecturas efectuadas.

El programa informático interpreta el grupo sanguíneo de cada muestra comparando el patrón de reacciones de aglutinación positiva y negativa, con los patrones de reacción previamente programados.

El resultado puede visualizarse por pantalla, imprimirse y transmitirse al ordenador central, con lo cual se agiliza notablemente la transcripción de datos evitando errores.

Ante una posible no interpretación automática del grupo de una muestra problema, se tiene la opción de introducir manualmente el resultado previa observación visual de la microplaca. Esta situación se debe a que los lectores automáticos suelen requerir una mayor intensidad de aglutinación que la lectura visual.

La automatización total o la semiautomatización del proceso va a depender de la disponibilidad de espacio y de los recursos económicos con que cuente el Banco de Sangre y también de la carga de trabajo; por ejemplo, una automatización total del

proceso se justifica cuando el Banco de Sangre procesa un gran número de muestras al día; en cambio, la adopción de un sistema modular puede ser rentable para Bancos de Sangre que manejen un número de muestras menor.

Por último, tanto la tecnología de microplacas como la técnica en fase sólida ofrecen varias ventajas con respecto a la técnica convencional en tubo:

Al contar con igual o mayor sensibilidad, los reactivos empleados pueden diluirse, lo que se traduce en ahorro de los mismos.

Pueden procesarse gran número de muestras, en una sola microplaca, lo que significa ahorro de tiempo.

El empleo de material de laboratorio disminuye, ya que en una sola microplaca se manejan gran número de muestras (se evita el empleo de los tubos de ensayo).

Por ser microtécnicas es necesario tener especial cuidado en cuanto al volumen de muestra y reactivos, condiciones de agitación, centrifugación y/o incubación, lo que facilita la estandarización de la técnica.

La automatización puede ser total o modular, dependiendo de las necesidades del Banco de Sangre. (44)

TECNOLOGÍA DE GELES

La prueba de gel fue desarrollada inicialmente para estandarizar las reacciones de aglutinación y como medio para "fijar" los eritrocitos aglutinados, permitiendo así una lectura confiable. Puede entonces considerarse como una nueva forma para la obtención y lectura de las reacciones de aglutinación. Esta técnica fue patentada en 1986, y se fundamenta en la centrifugación de los eritrocitos a través de un gel que se encuentra en una microcolumna especial, el gel detiene o fija en su superficie los eritrocitos aglutinados durante horas y los eritrocitos libres forman un botón en el fondo del microcolumna, dando lecturas claras y estables que aumentan considerablemente la confiabilidad en la prueba. En estas técnicas, la reacción de aglutinación ocurre durante la etapa de centrifugación, en el gel que contiene la microcolumna.(37)

La técnica en gel puede clasificarse en tres tipos: Neutra, específica y de antiglobulina:

En la técnica neutra el gel no contiene un reactivo específico. La función de este es únicamente la de fijar los eritrocitos aglutinados. Los eritrocitos más el reactivo específico, o la mezcla de estos con suero se agregan en la superficie del gel, posteriormente se incuban y entonces se centrifugan bajo condiciones establecidas. Después de la centrifugación, las reacciones negativas se diferencian claramente de las reacciones positivas, las cuales se pueden clasificar desde reacciones débiles a fuertes. La técnica de microcolumna en gel neutro se puede aplicar a la búsqueda y detección de anticuerpos (utilizando eritrocitos con o sin tratamiento enzimático), y para la tipificación inversa de grupo ABO.(37)

En la técnica específica en gel, las microcolumnas de reacción contienen una mezcla del gel con un reactivo específico (por ejemplo: anti-A, anti-B, anti-AB, anti-D, anti-C, anti-c, anti-E, anti-e), estos geles se emplean generalmente para la determinación de antígenos eritrocitarios. Se prepara una suspensión de eritrocitos en medio enzimático, se agregan al gel y después de un periodo de incubación se centrifugan. Al comienzo de la centrifugación los eritrocitos entran en contacto con el reactivo específico y en el caso de reacciones positivas, estos se aglutinan y se retienen o fijan en la superficie del gel, mientras que en las reacciones negativas, los eritrocitos libres forman un botón que se localiza en el fondo del microtubo.(37)

En la técnica de antiglobulina, el gel separa los eritrocitos del medio de suspensión, lo que se traduce en ahorro de tiempo, ya que se elimina la etapa de lavado que requiere la prueba convencional, pero sobre todo se eliminan los resultados falso-positivos que pueden darse cuando el proceso de lavado de eritrocitos es defectuoso o incorrecto.(38)

En la prueba indirecta de antiglobulina, 50 microlitros de una suspensión al 8% de eritrocitos se agrega a la superficie del gel, se agrega el suero y la microcolumna se centrifuga después de un periodo de incubación. Al principio de la centrifugación los eritrocitos tienden a pasar a través del gel, pero el medio en el que están suspendidos permanece en la superficie con la consecuente separación entre los eritrocitos y el medio de suspensión. Los eritrocitos entran en contacto con el reactivo de AGS en la parte superior de la microcolumna, llevándose a cabo la separación de las reacciones positivas y negativas. (51)

La centrifugación de las microcolumnas debe ser estrictamente controlada, el número de reacciones falso-positivas incrementa si la velocidad o el tiempo de centrifugación son menores, por otra parte, el número de reacciones falso-negativas se incrementa si el tiempo y la velocidad de centrifugación es mayor al establecido, otro parámetro importante es el eje de la microcolumna durante la centrifugación, la cual debe estar estrictamente en línea con la fuerza centrífuga. Una centrifugación de 10 minutos a 70 g es la indicada; existen en el mercado centrifugas diseñadas especialmente para la centrifugación de las microcolumnas, aunque pueden emplearse centrifugas convencionales, siempre y cuando la velocidad y el tiempo se controlen estrictamente.(37)

Con el fin de optimizar la técnica deben emplearse microcolumnas especiales, en las cuales la parte superior de la microcolumna debe ser más ancha para permitir el contacto entre los eritrocitos y la superficie del gel durante el tiempo de incubación, el resto de la microcolumna que contiene el gel debe ser relativamente larga y angosta para disminuir la cantidad de gel y por lo tanto el costo de la prueba, pero principalmente para asegurar el contacto prolongado de los eritrocitos con el gel durante la centrifugación.(37)

Las primeras pruebas empleaban tubos con capacidad para contener de 400 microlitros de gel, de 45mm de largo y un diámetro interno de 4mm, la cantidad contenida de gel era de 200 microlitros. Al mismo tiempo se desarrolló un kit compuesto por una tarjeta de plástico de 5*7cm que cuenta en la parte superior con seis microcolumnas cada uno de ellos contiene 40 microlitros de gel y se encuentran selladas por una delgada capa de aluminio. Dependiendo de las pruebas a realizarse, las microcolumnas pueden contener el mismo gel (gel para seis pruebas de antiglobulina, o gel neutro), o una combinación de geles con reactivos específicos (por ejemplo: anti-A, anti-B, anti-AB, anti-D, anti-C+D+E y gel neutro para tipificación de ant-C, -c, -E, -e y -K). Las tarjetas pueden conservarse durante un año a temperatura ambiente, ya que el gel es estable por un año.(37)

Varios tipos de gel pueden emplearse como reactivo (por ejemplo: sephadex G100 superfine, sephadex G200 superfine o sephacril S200). El tipo de buffer debe ser compatible con los eritrocitos (por ejemplo: solución salina, medio de baja fuerza iónica). Los procesos en la preparación del gel, tales como filtración y esterilización deben estar

estrictamente controlados para asegurar la estabilidad del gel, también pueden agregarse sustancias para asegurar su conservación (por ejemplo: azida de sodio).(38)

Los geles neutros pueden ser usados para la prueba inversa en la determinación de grupo sanguíneo ABO y búsqueda e identificación de anticuerpos con eritrocitos sin tratamiento enzimático o con tratamiento para ambas pruebas. En el caso de tipificación de grupo ABO, el primer método (sin tratamiento enzimático) es igual de sensible que el método en medio salino, el segundo método (con tratamiento enzimático) es más sensible que el método en medio salino pero incrementa el número de reacciones no específicas. Además, la técnica en gel puede usarse con un panel de antiglobulina humana monoespecífica (por ejemplo IgM, IgG o C3d) para identificar el anticuerpo que causa la reacción positiva para DAT.(57)

Una de las ventajas que ofrece la técnica en gel es la estandarización en cuanto a la interpretación de resultados, sin embargo en algunas ocasiones la presencia de fibrina puede ocasionar la lectura de reacciones falso-positivas, sin embargo el problema se puede solucionar solicitando plasma en lugar de suero, empleando como anticoagulante EDTA. (51)

Algunas de las ventajas que ofrece la técnica en gel con respecto a las técnicas de hemoaglutinación convencionales son las siguientes:

- Estandarización de la cantidad de muestra, de reactivos y lectura de la técnica. (39)
- La cantidad de muestra que se requiere es mucho menor, lo cual es muy conveniente para pacientes pediátricos. (39)
- La bioseguridad es mayor: a) la manipulación de la muestra del paciente por parte del personal disminuye, b) se elimina la manipulación y lavado del material, sobre todo tubos de ensayo, que comúnmente se emplean en la técnica convencional. (39)
- La técnica en gel puede adecuarse a Bancos de Sangre que manejen cargas de trabajo diferentes.
- La reacción de aglutinación que se lleva a cabo es más estable, y su interpretación no requiere tanto de la experiencia del personal que la realiza, por lo que la confiabilidad de la técnica en gel es mayor.
- La eliminación de la etapa de lavado puede en cierta forma aumentar la sensibilidad, limitando la elución de anticuerpos de los eritrocitos sensibilizados.

LA TÉCNICA DE ELISA APLICADA A INMUNOHEMATOLOGÍA

El Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a Enzima (ELISA), es una técnica que emplea una enzima como marcador para cuantificar reacciones Antígeno-Anticuerpo, en el área de inmunohematología esta técnica se ha empleado desde principios de los ochenta para la detección cualitativa o cuantitativa de eritrocitos sensibilizados con IgG.(40)

La técnica de ELISA empleada en inmunohematología se denomina ELAT (Prueba de Antiglobulina Ligado a Enzima), y consta básicamente de las siguientes etapas o pasos: (41)

1. Reacción de la antiglobulina: en esta fase de la técnica, una suspensión de eritrocitos del paciente entra en contacto con el conjugado formado por Fostatasa alcalina+Anti IgG humana. En el caso de que se encuentren eritrocitos sensibilizados en la suspensión, se va a formar un "complejo" o la unión de eritrocitos sensibilizados+conjugado.

2. Reacción enzimática: en esta fase de la técnica, si el complejo o la unión de eritrocitos sensibilizados+conjugado se ha formado en la incubación anterior, el sustrato (p-nitrofenil fosfato) reaccionará con la enzima para formar un producto (p-nitrofenil) que posteriormente será detectado espectrofotométricamente.

3. La reacción enzimática se detiene añadiendo NaOH posteriormente se mide la densidad óptica a 410 nm, empleando como blanco buffer de sustrato+solución de paro.

En cuanto a la técnica en sí, se tiene el inconveniente de que puede presentarse una adsorción no específica del conjugado empleado al tubo de ensayo (las primeras técnicas de ELAT se llevaron a cabo en tubos de ensayo), este problema se resuelve al transferir los eritrocitos+conjugado a un tubo de ensayo limpio antes de agregar el sustrato, por otro lado, para prevenir la hemólisis celular que pueda presentarse al agregar el sustrato debido al pH alcalino de este, se emplea un buffer carbonato-bicarbonato, la hemólisis no es conveniente debido a que las enzimas intracelulares pueden reaccionar con el sustrato, aumentar el valor de absorbancia y por lo tanto obtener resultados falsos positivos, disminuyendo así la confiabilidad de la prueba.(42)

El control negativo que emplea esta técnica para la validación de la misma consta de una suspensión de eritrocitos no sensibilizados, llevados a las mismas condiciones en las reacciones de antiglobulina y enzimática que la suspensión de eritrocitos del paciente. La prueba de ELAT se considera positiva si la absorbancia de los eritrocitos problema es mayor a la absorbancia de cuatro controles negativos.(40)

En los últimos años se ha probado el empleo de microplacas para la realización de la ELAT por varias razones: a) Se emplea menor cantidad de reactivo. b) Se elimina la transferencia de células a un tubo de ensayo limpio antes de agregar el sustrato, lo que significa ahorro de tiempo y una menor manipulación de la muestra.

Cuando se realiza la ELAT en tubo de ensayo, una vez que termina el periodo de incubación de la fase enzimática se emplea NaOH para detener la actividad de la enzima, antes de agregarla es necesario centrifugar y posteriormente separar el botón celular del sobrenadante para prevenir la hemólisis que pudiera producirse al agregar NaOH, una innovación en esta técnica es el uso de EDTA 0.1M para detener la reacción, lo que representa varias ventajas: (43)

Eliminación de los pasos de centrifugación y separación antes mencionados, lo que significa ahorro de tiempo y por otro lado, al detener en un sólo paso la reacción enzimática se tiene un mayor control del tiempo de dicha reacción.

El empleo de EDTA como solución de paro, así como el uso de microplacas significan un avance en el desarrollo de esta técnica, y en especial el uso de microplacas puede ser el primer paso hacia la automatización del proceso.

La ELAT es una técnica que pudiera sustituir a la Prueba de Antiglobulina Directa convencional, una de las ventajas de esta técnica es que es más sensible que la técnica convencional, esta ventaja de la ELAT es particularmente útil para el diagnóstico de pacientes con Anemia Hemolítica Autoinmune que muestran una PAD negativa, otra ventaja es que los valores de absorbancia en ELAT tienen una relación lineal con

respecto a la cantidad de eritrocitos sensibilizados, así que la ELAT puede emplearse para monitorear o controlar la terapia en pacientes con Anemia Hemolítica Autoinmune.(41)

La técnica de ELAT es práctica y accesible para la mayoría de los Bancos de Sangre ya que su costo no es muy alto, el reactivo más costoso para la técnica de ELAT es el conjugado (Fosfatasa alcalina+anti IgG), y el costo total de la prueba es básicamente el mismo que la PAD. Debido a que el punto final de la prueba es objetivo (se mide la absorbancia de la muestra), no se requiere de una gran experiencia por parte del personal que la realiza y el resultado no va a depender de la apreciación o experiencia del personal, como en el caso de la PAD.(41)

Sin embargo, la ELAT también tiene algunas desventajas con respecto a la PAD, una de ellas es el tiempo requerido para realizar el ensayo inmunoenzimático. La ELAT requiere aproximadamente dos horas y media para procesar 12 muestras, y desde luego no es una técnica indicada para realizarse rutinariamente en la sección de inmunohematología en Banco de Sangre, sin embargo, como se mencionó anteriormente el punto final de esta es objetivo y su mayor sensibilidad con respecto a la PAD es la indicada para practicarse en pacientes que cursen con Anemia Hemolítica Autoinmune. (41)

La ventaja que tiene la ELAT con respecto a la técnica en gel, es que la ELAT es una técnica que nos permite determinar una reacción cuantitativa, mientras que la técnica en gel proporciona resultados cualitativos; por otro lado la desventaja de la ELAT con respecto a la técnica en gel es que la ELAT requiere más tiempo en procesarse que una técnica en gel, además de que la técnica de ELAT solo se ha empleado para la determinación de eritrocitos sensibilizados, mientras que la técnica en gel puede emplearse para la determinación de grupo ABO, Rh, fenotipo, Combs, etc;

PRUEBA CRUZADA POR COMPUTADORA

Durante varios años se ha contemplado la posibilidad de reemplazar total o parcialmente la prueba cruzada, básicamente por el hecho del tiempo que se requiere para realizarla, lo que implica un retraso en la liberación de la sangre solicitada. En los últimos años se

ha evitado la liberación de unidades ABO incompatibles reemplazando la fase de antiglobulina por una prueba de detección de anticuerpos, pero manteniendo la prueba de salina rápida obteniendo buenos resultados (52), este procedimiento comenzó a emplearse a mediados de los 80's. En la actualidad, con la introducción al Banco de Sangre del sistema electrónico se ha establecido la prueba cruzada por computadora, en donde el laboratorio emplea el equipo de cómputo para evitar la liberación de productos ABO incompatibles, es decir, detectar la incompatibilidad ABO entre la muestra que se presenta para la prueba pretransfusional y la unidad seleccionada para transfundir (55).

El proceso se denomina ABCD y el protocolo consta básicamente de:

1. Búsqueda y detección de anticuerpos.
2. Determinación de grupo ABO/Rh y verificación del mismo.
3. Liberación del producto sanguíneo controlado por un sistema electrónico.

Para realizar la prueba cruzada por computadora es necesario que esta cuente con al menos dos archivos, uno que contenga información de los productos sanguíneos disponibles (existencia de productos) con los siguientes datos: grupo y Rh, registro o número de identificación, tipo de producto sanguíneo, fecha de extracción y caducidad, volumen, resultado de pruebas serológicas, etc.; Un segundo archivo que contenga información del paciente: nombre completo, sexo, fecha de nacimiento, número de expediente, servicio, grupo y Rh, y especialmente el registro de transfusiones previas. Los pacientes y donadores que hayan tenido una búsqueda y detección de anticuerpos positiva deben estar registrados y marcados como "No aceptados" o "No aptos" (46), entonces el personal deberá realizar la prueba cruzada convencional y seleccionar el producto solicitado bajo el criterio o norma establecido por el Banco de Sangre.

De manera general, el procedimiento para realizar la prueba cruzada por computadora es el siguiente:

1. Ingreso de la muestra del paciente con la solicitud del producto sanguíneo al Banco de Sangre; si el paciente tiene en su historia transfusional una prueba de búsqueda y detección de anticuerpos positiva, se considera no apto para la prueba cruzada por computadora, entonces se realizará la prueba cruzada convencional para la selección de productos sanguíneos compatibles. (52)

2. Tipificación y verificación del grupo sanguíneo por duplicado sin que se presenten discrepancias. (52)

3. Búsqueda y detección de anticuerpos irregulares; el resultado obtenido debe compararse con el reportado en el historial del paciente en caso de que haya tenido transfusiones previas, en ambos casos el resultado debe ser negativo para poder continuar con el proceso. (53)

4. Si se dan las condiciones anteriores entonces se lleva a cabo la selección del producto por parte del sistema electrónico (eligiendo las unidades que sean compatibles con el grupo/ Rh del paciente) y se imprime un certificado de compatibilidad (46).

5. El personal de Banco de sangre se encarga de ubicar y reservar las unidades asignadas, verificando que el nombre del paciente y su número de identificación personal coincidan con el registrado en el certificado de compatibilidad. Las unidades se reservan por un periodo de tiempo establecido por el mismo Banco de Sangre, si al transcurrir este periodo el producto sanguíneo no es solicitado, el personal debe reingresar el producto a la lista de existencia para marcarlo como disponible (46).

Ahora bien, los requerimientos obligatorios para la prueba cruzada por computadora son los siguientes:

1. El sistema debe seleccionar, asignar y liberar los productos sanguíneos que sean ABO compatibles y por otro lado debe tener la capacidad de prevenir la asignación y liberación de productos sanguíneos ABO incompatibles si:

a) La asignación del producto no es permitida si se ha efectuado una sola determinación de grupo/Rh.

b) El tipo ABO/Rh actual no coincide con el que está registrado previamente.

c) En el caso de concentrados eritrocitarios no puede reservarse ni asignarse una unidad que no sea compatible con el ABO/Rh del paciente. (46)

2. La prueba de búsqueda e identificación de anticuerpos debe ser negativa, tanto en el registro previo como en el actual. La búsqueda y detección de anticuerpos se realiza a

todos los pacientes que ingresan al servicio, para poder asignar un producto bajo el sistema ABCD es necesario que el paciente tenga una búsqueda y detección de anticuerpos negativa, tanto en la muestra actual como en su historia transfusional. (53)

3. Las dos últimas determinaciones ABO/Rh del paciente deben ser concordantes. La tipificación de grupo ABO/Rh se realiza por duplicado empleando en cada ocasión un reactivo comercial diferente en la determinación celular. La primera determinación se realiza empleando la muestra que se entrega al solicitar el producto, la segunda determinación se realiza con una muestra anterior o posterior a la entrega de la solicitud, siendo obligatorio que ambas determinaciones concuerden entre sí para continuar con el proceso.

Se solicitan dos muestras para eliminar posibles errores de identificación al tomar la muestra, es decir, para evitar la identificación incorrecta muestra-paciente. Se establece el empleo de un sistema automatizado para la determinación de grupo ABO/Rh y la identificación de anticuerpos, en este caso el resultado obtenido se transfiere directamente del equipo automatizado al registro (mediante la identificación por código de barras) (46).

4. Los pasos críticos del procedimiento deben ser validados en el mismo Banco de Sangre. La validación del sistema de cómputo es muy importante para asegurar la liberación de productos compatibles para el paciente, esta validación debe hacerse en el mismo Banco de Sangre y también es recomendable que se realice con los demás equipos implicados en el proceso, tales como equipo automatizado e identificadores de muestra por código de barras (que se emplea para ingresar los datos de donador y paciente).(53)

La validación debe incluir los pasos críticos del proceso, como pueden ser:

- a) El mecanismo para la interpretación de resultados que emplea el sistema.
- b) Comprobación de la transferencia correcta de resultados, del equipo automatizado al sistema electrónico.
- c) El ingreso correcto de los datos del paciente y donador.

5. Debe existir un mecanismo para verificar el ingreso correcto de los datos antes de la liberación del producto. Un punto crucial para la correcta asignación del producto es el ingreso correcto de datos al sistema de cómputo, la seguridad del método se basa principalmente en la precisión con que los datos se almacenen en la computadora. Los mecanismos para asegurar una información correcta son los siguientes:

- a) Uso de código de barras para transferir la información de donador y paciente a la computadora.
- b) Prueba confirmatoria del ABO/Rh del donador e interpretación electrónica del resultado.
- c) Comparación electrónica entre el tipo ABO/Rh actual y el registrado previamente.

Algunas ventajas de la prueba cruzada por computadora: (55)

1. Ahorro de tiempo, agilizando así la disposición y liberación del producto solicitado.
2. Al disminuir la carga de trabajo el personal del Banco de Sangre puede disponer de más tiempo para verificar todos los datos del paciente y las condiciones de la muestra cuando esta ingresa al servicio, aclarando algunas discrepancias que pudieran presentarse.
3. Disminución en la manipulación de material biológico, sobre todo cuando se emplean equipos automatizados.

La combinación de un sistema o programa adecuado, la validación de este junto con los demás sistemas implicados en el proceso y el establecimiento de procedimientos de operación estandarizados son elementos que en su conjunto brindan la confiabilidad y seguridad en el proceso, garantizando así la correcta asignación y liberación del os productos sanguíneos solicitados; es por esto que la prueba cruzada por computadora es un proceso que implementa un número cada vez mayor de Bancos de Sangre obteniendo buenos resultados.

V. EVALUACIÓN DE LOS EQUIPOS AUTOMATIZADOS EN INMUNOHEMATOLOGÍA

Hoy en día los equipos o sistemas automatizados cuentan con características propias, las cuales pueden satisfacer las necesidades que cada Banco de Sangre haya establecido previamente. Una vez que el Banco de Sangre considera uno o más sistemas automatizados como candidatos a elección, es conveniente hacer una evaluación general del equipo para comprobar que este cumple con los requerimientos ya establecidos, antes de realizar la compra del mismo.

El proceso de evaluación consta de una etapa inicial que consiste en:

Recabar información del equipo a evaluar, la cual puede obtenerse de publicaciones especializadas, congresos, exhibiciones e incluso de la consulta con otros Bancos de Sangre, los datos obtenidos servirán como referencia para establecer las normas o criterios de evaluación del equipo.

Solicitar a la casa comercial información acerca de las especificaciones técnicas y de seguridad, tales como:

- Reactivos: Control de calidad, mecanismos de dispensación, volumen, proveedor (es), etc;
- Manejo de datos: Formato, almacenamiento, registro, etc;
- Instalación: Requisitos de voltaje, suministro de agua, presión de aire, temperatura, dimensiones del equipo, etc;

Apoyo técnico por parte del fabricante:

- Capacitación al personal de Banco de Sangre en el manejo del equipo.
- Instalación del equipo.
- Mantenimiento preventivo y correctivo.
- Servicio oportuno en caso de fallas.
- Suministro continuo de reactivos, sobre todo si hay un único proveedor.(48)

En base a los reportes que se obtengan independientemente de cada equipo, se definirán los criterios de aceptación, los cuales se emplearán en la evaluación final.

Cuando los criterios de aceptación ya están establecidos y se considera que se cuenta con la información suficiente, entonces puede hacerse una evaluación inicial en forma objetiva de cada equipo, tomando también en cuenta las siguientes consideraciones:

- a. ¿La capacidad del equipo se ajusta a la carga de trabajo del Banco de Sangre?
- b. ¿ Existe el suministro adecuado para cumplir las especificaciones técnicas?
- c. ¿Son razonables los costos reales del equipo y se mantienen dentro del presupuesto.
- d. ¿El costo del equipo es razonable con otro equipo similar?
- e. ¿El volumen de muestra es el conveniente?
- f. ¿El equipo proporciona resultados confiables y reproducibles?
- g. ¿La sensibilidad del equipo es mayor o igual a la del método convencional?
- h. ¿El Banco de Sangre cuenta con los recursos económicos, humanos y de espacio para el funcionamiento óptimo del equipo?(48)

Ya que se realiza la evaluación inicial de cada equipo y que se estudian y comparan entre sí, podrá elegirse de forma objetiva un equipo en específico para una evaluación más detallada, entonces es conveniente consultar con la casa comercial si el equipo seleccionado puede estar a prueba en el Banco de Sangre durante un periodo de evaluación de prueba para comprobar si el equipo seleccionado es el correcto.

En caso de que la casa comercial esté en disposición de facilitar el equipo para una evaluación de prueba, el Banco de Sangre debe planear junto con esta la instalación del equipo, la cual estará a cargo del fabricante, si el Banco de Sangre debe instalar otros instrumentos, el fabricante debe proporcionar instrucciones precisas; debe transcurrir un periodo de familiarización antes de realizar la evaluación, que incluya la capacitación del personal para la instalación, manejo y mantenimiento del equipo. El entrenamiento se completa con la confirmación del funcionamiento adecuado del equipo, así como el entrenamiento verificado del personal por parte del personal técnico de la casa comercial.(48)

La evaluación de prueba del equipo consiste en procesar muestras de rutina de pacientes y donadores durante un periodo de tiempo corto, dentro de estas corridas de prueba deben incluirse muestras de pacientes que tengan características clínicas importantes, así como muestras lipémicas, ictericas, hemolizadas o que se piense puedan afectar el

resultado obtenido; el análisis se efectúa por duplicado, de preferencia en distintas corridas para comprobar la reproducibilidad de los resultados. Las muestras que procese el equipo deben procesarse también por el método convencional que emplee el Banco de Sangre para llevar a cabo un análisis comparativo de los resultados obtenidos por ambos métodos.

Al término de esta evaluación de prueba se realiza un informe acerca del desempeño del equipo, desde el mantenimiento previo al proceso de muestras hasta la obtención de resultados, es importante que el informe incluya los siguientes puntos:

1. Versatilidad del instrumento: Proveedor o (es) de reactivo, capacidad de manejo de pruebas urgentes.
2. Flexibilidad del programa electrónico: Demografía del paciente, programas de control de calidad, identificación de la muestra e interfase con otras computadoras.
3. Volumen de muestra requerida.
4. Velocidad de muestreo, incluyendo calibradores y controles.
5. Tiempo requerido para el procedimiento de mantenimiento y limpieza del equipo.
6. Apoyo por parte del fabricante: tiempo para acudir a mantenimiento correctivo, disponibilidad de refacciones y reactivo del equipo.
7. Facilidad de manejo y mantenimiento preventivo.
8. Problemas encontrados y su solución. (48)

- En ocasiones se reciben muestras de pacientes hemolizadas, lipémicas, con coágulos de fibrina o coaguladas. Al preparar la suspensión de eritrocitos por parte del equipo, la presencia de coágulo dificulta o impide la toma adecuada de células, entonces el equipo emite un mensaje de error y el resultado se reporta como indeterminado. En el caso de muestras lipémicas o hemolizadas, el valor de absorbancia alta que detecta el lector manda o emite el error y entonces también manda el resultado como indeterminado; (49), la mayoría de resultados indeterminados se debe a una muestra inadecuada, por lo que es necesaria la estandarización en cuando a la recolección de la muestra para optimizar el proceso.

9. Análisis comparativo de los resultados obtenidos por el equipo y el método convencional. En el proceso de evaluación de prueba del equipo, se corren en paralelo

las muestras por el método convencional (que generalmente es la técnica en tubo) y el equipo automatizado que se está evaluando para comparar los resultados obtenidos por ambos métodos, en caso de existir discrepancias entre ambos, conocer las causas. (58)

10. Resultados:

- Lectura e interpretación: Existen equipos totalmente automatizados que cuentan con un lector de absorbancia, al tomar la lectura del pozo de reacción el resultado obtenido se interpreta en base a rangos o medidas previamente establecidos e incluidos en el software de la computadora, la lectura de absorbancia obtenida puede entonces interpretarse como positiva, negativa o indeterminada. (49)

- Porcentaje de resultados que se reportan como indeterminados.
- Reproducibilidad de los resultados.
- Discrepancias entre ambos métodos: automatizado y convencional.

11. Tiempo requerido para la obtención de resultados. Durante el proceso de evaluación del sistema o equipo se mide el tiempo requerido para cada prueba en particular o para un perfil de pruebas, Es necesario medir el tiempo que se invierte en procedimientos tales como: elaboración de la lista de trabajo, corroborar que los datos de la etiqueta de la muestra coincidan con la requisición que se entregó, impresión y etiquetado del código de barras correspondiente a cada muestra, preparación de reactivos, ubicación de reactivos y muestras en el rack, inicialización del sistema, registro e impresión de resultados y por último mantenimiento de fin de trabajo del equipo. En el caso del método convencional también se registra el tiempo que se requiere para identificar la muestra, centrifugación, adición de reactivos y muestras, periodos de incubación, lectura, interpretación y reporte de resultados. El tiempo estándar para la determinación de cada prueba se obtiene dividiendo el tiempo total entre el número de muestras a las que se les asignó dicha prueba. (50).

12. Identificación de la muestra y reactivos. Los equipos totalmente automatizados cuentan con un lector de código de barras para identificar tanto la muestra (como los reactivos que se empleen en cada corrida). Por otro lado, existen equipos en el mercado que una vez que identifican la muestra automáticamente seleccionan los pozos de reacción apropiados, dependiendo del perfil o prueba que se eligió, depositando la

suspensión de eritrocitos o plasma según el caso para empezar a procesar las muestras.
(50)

La última etapa en el proceso de evaluación consiste en hacer un estudio comparativo entre los resultados o el reporte que se obtiene de la evaluación de prueba y los criterios de aceptación que se hayan establecido previamente, para determinar si el equipo o sistema seleccionado va a cumplir con los objetivos fijados por el Banco de Sangre. En resumen, podemos decir que la evaluación de los equipos automatizados es una herramienta útil para:

- Conocer la capacidad y desempeño del equipo a evaluar.
- Identificar los pasos críticos del proceso.
- Conocer los cambios que implica la implementación del equipo en el trabajo y calidad de servicio en el Banco de Sangre.
- Comprobar si el equipo seleccionado es el adecuado y según el caso: implementar su uso o buscar otras alternativas.

VI. APORTES DE LA AUTOMATIZACIÓN AL BANCO DE SANGRE

En las últimas décadas, los avances científico-tecnológicos que se han dado en el área de salud son notables y durante los últimos años, la introducción de la automatización en el Banco de Sangre es una herramienta útil que permite mejorar la calidad del servicio al paciente. Actualmente, la implementación de un sistema automatizado ofrece algunas ventajas o beneficios con respecto a las técnicas manuales (hemoaglutinación en tubo) que comúnmente se emplean en la sección de inmunohematología, que dentro del Banco de Sangre es la encargada de realizar las pruebas de compatibilidad sanguínea entre paciente y donador, para prevenir la transfusión de sangre incompatible que pueda causar reacciones adversas al paciente; con la finalidad de asegurarle los mayores beneficios de la transfusión sanguínea.

El ahorro de tiempo es una de las ventajas principales, el tiempo que se invierte para la realización de pruebas pretransfusionales, que incluyen: determinación de grupo sanguíneo y Rh, búsqueda y detección de anticuerpos irregulares y pruebas cruzadas, disminuye cuando se emplea un equipo automatizado, ya que el proceso en sí puede incluir tiempos de incubación más cortos u omitir los pasos que en técnicas manuales son necesarios y que implican gasto de tiempo; esto permite obtener resultados con mayor rapidez y por consiguiente tener disponible la unidad solicitada de forma oportuna (a tiempo).

La entrega por parte del Banco de Sangre de una unidad incompatible para el paciente que la requiera puede deberse a errores de transcripción de los resultados obtenidos a la hoja de reporte o a la identificación incorrecta de la muestra tanto del donador como del paciente; la automatización puede corregir dichos errores, ya que el sistema o equipo automatizado se encuentra enlazado a una computadora, la cual tiene como función registrar, almacenar e imprimir el resultado que recibe, con la ventaja de que este puede verificarse y consultarse por el personal del servicio cuando sea necesario. En cuanto a la identificación correcta de la muestra, esta puede lograrse incorporando al equipo un lector electrónico de código de barras, el cual leerá la etiqueta con el código impreso que se coloque en el tubo de recolección de la muestra, lo ideal sería que tanto el tubo piloto como la bolsa de recolección del donador tuvieran un mismo código de barras, evitando así los errores debidos a una identificación errónea de la misma.

Un sistema automatizado emplea menor cantidad de muestra, lo que representa una ventaja cuando se trata de pacientes pediátricos, geriátricos u oncológicos.

Los sistemas automatizados emplean menor volumen de reactivo, lo que se traduce en un ahorro económico y también cuentan con un control de calidad interno de los mismos.

La hemoaglutinación en tubo ha sido hasta la fecha la técnica manual más empleada en inmunohematología, sin embargo la mayor desventaja de ésta es la subjetividad en la interpretación del resultado, ya que este va a depender en gran medida de la experiencia y apreciación visual del personal que la realiza, por lo que el resultado puede variar de una persona a otra y por lo tanto no se obtienen resultados consistentes ni reproducibles; en cambio el equipo automatizado cuenta con lectores electrónicos que realizan la lectura y la interpretan de acuerdo a un esquema o sistema ya estandarizado, por lo tanto la interpretación se hace de manera objetiva obteniendo así resultados estandarizados, consistentes y sobre todo mucho más confiables, es por esto que indudablemente el aporte más importante de la automatización al Banco de Sangre es la obtención de resultados objetivos y consistentes.

En resumen, la implementación de un equipo o sistema automatizado en Banco de Sangre aporta un beneficio económico, ya que los equipos automatizados emplean menor volumen de reactivo y el proceso en sí requiere menos material de laboratorio. El ahorro de tiempo que significa el empleo de un sistema automatizado mejora la eficiencia del servicio, ya que el producto solicitado estará disponible en un tiempo menor y por otro lado el personal de Banco de Sangre puede emplear el tiempo que se ahorra en otras actividades, pero sobre todo la automatización tiene la ventaja de ofrecer resultados confiables y reproducibles que es uno de los objetivos que se plantea el Banco de Sangre cuando desea mejorar la calidad en el servicio.

VII. COSTO / BENEFICIO

Hoy en día, la automatización representa una opción para mejorar la eficiencia y aumentar la productividad en el servicio de Medicina Transfusional, una vez que el Banco de Sangre ha optado por la implementación de un sistema automatizado es necesario evaluar el costo total, lo que implica la instalación y funcionamiento correcto del equipo. Una evaluación global no solo debe incluir el precio del equipo en sí, también deben considerarse los siguientes: (28) -

1. Costos de instalación: fuentes de energía (luz), toma de agua, instalación de aire acondicionado en caso de que el equipo requiera de una determinada temperatura para su óptimo funcionamiento, etc;
2. Insumos para el proceso, que incluyen reactivos, calibradores, controles, repetición de pruebas, desperdicios por caducidad, accesorios consumibles y desechables, etc;
3. Capacitación continua del personal para el mantenimiento y manejo adecuado del equipo.
4. Mantenimiento preventivo y correctivo del equipo.
5. Depreciación de inversiones: El valor de desgaste del equipo en sí, de los equipos de cómputo, etc;
6. Mermas de almacén: insumos caducados en anaquel de almacén o en el mismo Banco de Sangre, cambio de Técnicas no informadas al servicio de abastecimiento, errores de almacenamiento y faltantes de almacén.

Es de vital importancia contar con información actualizada y considerar todos los puntos anteriores para tener un costo real, de manera que la inversión prevista no se incremente debido a costos que no se hayan considerado.

El estudio sobre gastos y costos tienen poca importancia si no se relacionan con los beneficios obtenidos, de manera que así como se realiza la evaluación financiera es

necesario conocer los beneficios que se obtienen al implementar el sistema automatizado, estos son algunos que pueden obtenerse:

1. Ahorro de tiempo.
2. Ahorro de reactivo y material.
3. Resultados confiables.
4. Disminución de los errores provocados por identificación incorrecta de la muestra.
5. Disminución de errores debidos a la transcripción y reporte de resultados.
6. El resultado puede almacenarse, por lo que puede ser consultado e impreso cuando se requiera.

Algunos de los beneficios aquí mencionados reflejan un ahorro económico y de tiempo, y la suma de todos ellos se reflejan en la obtención de resultados confiables y oportunos.

Como se mencionó anteriormente, el objetivo a cumplir implementando un sistema automatizado es aumentar la productividad en el Banco de Sangre, lo que implica brindar confiabilidad y oportunidad al menor costo, este objetivo puede cumplirse a corto, mediano y largo plazo. Las metas u objetivos a corto plazo consisten en pequeños cambios que pueden implementarse rápidamente, tienen un costo mínimo y están dentro del control del mismo Banco de Sangre; las metas a mediano plazo generalmente requieren de una inversión mayor de capital, de cambios físicos en el Banco de Sangre y para llevarlas a cabo se requiere de aprobación por parte de otros departamentos dentro de la institución hospitalaria. Por último las metas a largo plazo se caracterizan por requerir de una elevada inversión, cambios físicos dentro del Banco de Sangre y varios niveles de aprobación. Podemos considerar que la implementación de un sistema automatizado o la automatización total en Banco de Sangre son metas a mediano y largo plazo, como estas implican cambios físicos y sobre todo una inversión de capital es necesaria una planeación cuidadosa, bien informada y organizada para que al poner en marcha el proyecto se obtengan los beneficios esperados y

no se corra el riesgo de hacer una gran inversión financiera y resulte al final que el proceso o la técnica que se automatizó no era la indicada o el equipo elegido no era el adecuado.

La inversión de capital que implica el proyecto de automatización debe estar justificada en base a las ventajas o beneficios obtenidos del mismo, por esto es importante que el Banco de Sangre realice un cálculo real y actualizado del costo total que el proyecto representa y que conozca las ventajas o beneficios que va a obtener de la automatización para poder establecer una relación costo/beneficio ya establecida pueda entonces determinar si la automatización del proceso o la elección de un equipo determinado conviene al Banco de Sangre.

En nuestro país es cada vez mayor el número de Bancos de Sangre que ya han instalado un sistema automatizado o semiautomatizado en la sección de inmunohematología. Aunque la instalación, funcionamiento y mantenimiento de un equipo automatizado requiere de una inversión considerable, los beneficios y ventajas que representa justifican su empleo y en México existen actualmente equipos automatizados o modulares que pueden ajustarse a las posibilidades económicas del Banco de Sangre que esté considerando su implementación.

VIII. CONCLUSIONES. :

La sección de inmunohematología tiene como función realizar las pruebas pretransfusionales, que tienen como objetivo seleccionar el producto sanguíneo compatible con el paciente. Hasta hace poco tiempo la técnica de aglutinación en tubo era la más empleada para la realización de dichas pruebas, sin embargo los avances tecnológicos que se han dado en el campo de la Medicina Transfusional, han permitido el desarrollo de técnicas tales como la adherencia en fase sólida y pruebas en gel, las cuales eliminan la subjetividad en la interpretación de resultados que presenta la técnica convencional.

La implementación de un equipo o sistema automatizado en la sección de inmunohematología dentro del Banco de Sangre, es un proceso que consiste de varias etapas o pasos, que van desde la búsqueda de información en casas comerciales hasta la implementación y evaluación del equipo que se considera es el adecuado, de acuerdo a los objetivos propuestos por el Banco de Sangre y a los recursos humanos, económicos, de espacio e instalación con los que cuenta.

El empleo de un sistema automatizado o semiautomatizado en Banco de Sangre representa varias ventajas con respecto a las técnicas manuales, tales como ahorro de tiempo, menor volumen de reactivo, menor volumen de muestra empleado, estandarización en cuanto a la interpretación de los resultados, así como su registro y almacenamiento e identificación por código de barras de la muestra. Estas ventajas o beneficios que aporta la automatización se reflejan en la obtención de resultados confiables y oportunos, considerándose hoy en día como una buena opción o alternativa para cumplir las metas u objetivos que determina cada Banco de Sangre cuando desea mejorar la calidad de servicio al paciente.

REFERENCIAS:

1. Erskine and Sacha; The principles and practice of blood grouping, USA, 1978; pp. 1-18.
2. Zmijewski; The history of blood transfusión; Immunohematology; Medicina Transfusional; México 1999; pág. 1.
3. Paje J. The liquid tissue. Blood: The river of life; 1985; pp. 42-47.
4. Greenwalt T. J. A short history of transfusion medicine; Transfusion, 37:550-563; 1997.
5. Turgeon M. L.; Safety and quality assurance in the blood bank. Fundamentals of immunohematology, 1995..
6. Genet Bernard; La transfusión; Barcelona, 1980; pág. 8.
7. Quinley D. E.; Immunohematology, Principles and Practice; Cap. 6; Antiglobuline Test; 2da. Edición; Ed. Lippincott; USA, 1998.
8. AABB; Manual Técnico; 12ava. Edición; Argentina, 1996.
9. Linares G. J.; Inmunohematología y Transfusión, Principios y procedimientos; 1era. Edición; Ed. Cromotip C. A; Venezuela, 1986.
10. Norma Oficial Mexicana (NOM-0003-SSA 2-1993) para la disposición de sangre humana; C11; Apéndice C (Normativo) Informes, Documentos y Registros.
11. Sazama K; Reports of 355 transfusion associated deaths:1976 through 1985. Transfusion 1990; 30:583-90.
12. Klein H. G., ed. Standars for blood banks and transfusion services, 17th. Ed. Bethesda MB; AABB 1996.
13. Radillo G. A.; Medicina Transfusional; 1era. Edición; Ed. Prado; México, 1999.
14. Honig; Transfusión associated fatalities: Review of Bureau of Biologics Reports; Transfusion, 1980; 20:653-661.
15. Mollison P. L., Engelfriet C. P., Contreras M.; Blood Transfusion in clinical medicine; 9th edición; Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1993.
16. Vega C. M; Manual de Medicina Transfusional; New York, 1994; pp. 77-125.
17. Rowe A. L.; Evaluation of a new blood grouping instrument; Transfusion, 1982; 22:323.325,

18. Glottieb A. M.; Karl Landsteiner: The melancholy genius; *Transfusion Med. Rev.*; 12(1):18-27; 1998.
19. Contreras M; Testing before transfusion and blood ordering polices; *British Medical Journal*, 1986; 299:1446-1449.
20. Turgeon M. L.; *Fundamentals of inmunoematology, Theory and Technique*; Cap. 17.
21. Garretta M. et al; Reliability in automatic determination of the ABO group by de Groupomatic system; *Vox. Sang*, 1974; 27:34.
22. Raichle T. L.; *Modern blood banking and transfusion practices*; Philadelphia, 1994.
23. Graeme Woddfield; *Predonation Screening and Pretransfusion Testing*; *Vox Sanguinis*, 1994; 5:20-27.
24. Menitove J.; *Standards for blood banks and transfusion services*; 18th ed. Bethesda; American Association of Blood Centre; 1998.
25. Theuriere, M.; Automated detection of red antibodies in donor sera using an automated technology; *Transfusion*, 1985; 25:257-260.
26. Greenwalt T. J.; A short history of transfusion medicine; *Transfusion*, 1997; 37:550-563.
27. Peoples, J. C. A.; A retrospective survey of blood bank automation; *Laboratory Medicine*, 1985; 16(12):763-765.
28. Garreta; The Groupomatic system for rutine immunohematology transfusion; Philadelphia, 1985; 5:442.
29. Plapp V. F.; A solid phase antibody screen; *American Journal Clinical Patthology*. 1984; 82:719-721.
30. Tamura M; Matsuda N.; Development of a new microplate with amphiteater-shaped wells free from crumbings in hemaglutination pattern. AABB 38th Annual Meeting; Miami, 1985.
31. Girard M.; Automation in blood banking; *Vox sanguinis*; 51:suppl. 1; pp. 52-56; 1986.
32. Sandoval A. E.; Como incrementar la productividad del Laboratorio Clínico dentro de un sistema de mejoría continua de la calidad.
33. Douglas, R; A solid phase antiglobuline test; *Transfusion*, 1987; 27(4):378-383.
34. Sinor et al; Solid phase ABO grouping and Rh typing; *Transfusión* 25:21-23; 1985.

35. Sinor L. T.; Advances in solid-phase red cell adherence methods and transfusión serology; *Transfusion Medical Review*, 1992:6-26.
36. Rachel J. M. et al; A solid phase antiglobuline test; *Transfusion*; 25:24-26.
37. Lapiere Y., Rigal J., Adam D.; The gel test: a new way to detect red cell antigen-antibody reactions; *Transfusión* 1990; pp. 109-113.
38. Duguid J. K. M., Bromilov I. M.; New Technology in hospital blood banking; *Journal Clinical Pathology*; 46:585-588; 1993.
39. Langston M. M., Procter K. M., Ciplone and Stroncek; Evaluation of the gel test system for ABO grouping and D typing.
40. Bruner K. W et al; An enzyme Linked Immunoabsorbent Assay (ELISA) for detecting IgG sensitized Erythrocytes; *Transfusion*; November-December; 1989.
41. Further improvement of the Enzyme-Linked Antiglobuline Test (ELAT) for erithrocite antibodies; *Am. J. of Clinical Pathology*; February, 1992.
42. Leikola J. et al; Enzyme-Linked antiglobuline test: An accurate and simple metod to cuantify red cell antibodies; *Transfusion*; March-April, 1980.
43. Reppun T. et al; Enzyme-Linked immunosorbent microtiter assay for red cell serology; *Transfusion* 23:305-309; 1983.
44. Franco, Elena; Microplacas: su aplicación en inmunohematología básica en Banco de Sangre; editado por Ortho-Clinical Diagnostics; Madrid, 1998.
45. Diagnóstica MERCK.
46. Safwenberg; Computerized delivery control a useful and safe complement to the type and screen compatibility testing; *Vox Sanguinis*; 72:162-168; 1997.
47. Heise Klaus; Foro sobre organización y dotación del Lab. Clínico; Colombia, 1995.
48. Castillo de Sánchez; Mejora continua de la calidad; Ed. Panamericana; México 1995.
49. Sandler, Langeberg, Mintz; A fully automated blood system for hospital transfusion services; *Transfusion*; February 2000; pp. 201-207.
50. Morelati; Evaluation of a new automated instrument for pretransfusion testing; *Transfusion*; Octubre 1998; pp. 959-965.
51. Cate John; Evaluation and Implementation of the Gel Test for Indirect Antiglobulin Testing in a Community Hospital Laboratory; *Arch Pathol Lab Med*; Vol. 123; Agosto, 1999.

52. Kuriyan; Pretransfusion testing without serologic crossmatch: Approaches to ensure patient safety; *Vox Sanguinis*; 78:113-118; 2000.
53. International forum; The use of the computer cross-match; *Vox Sanguinis*; 80:184-192; 2001.
54. Duguid; New technology in hospital blood banking; *Journal Clinical Pathology*; 46:585-588; 1993.
55. Judd W. John; Requirements for the electronic crossmatch; *Vox Sanguinis*; 74 (suppl. 2):409-417; 1998.
56. Gershon H. Growe; The implementation and use of automated group and screen procedures in a hospital transfusion laboratory; *Transfusion Medicine Reviews*, 1996; 10(2):144-151.
57. Oytip Nathalang; Comparison between the conventional tube technique and the gel technique in direct antiglobuline test; *Vox Sanguinis*, 1996; 72:169-171.
58. British Committee for Standards in Haematology; *Transfusion med.*; 1995; 5:145-150.
59. Reiss R. F.; Blood grouping with the Olympus PK7100 testing system; *Clinical Laboratory Haematology*, 1988; 10:385-390.