

José Luis
 Alcaraz-López

La reacción transfusional hemolítica inadvertida, detectada "a posteriori" por el laboratorio

RESUMEN

Se define como reacción transfusional hemolítica tardía la que pasa inadvertida en las primeras 24 horas posteriores a la transfusión o que puede demostrarse hasta varias semanas después por datos clínicos y de laboratorio. La mayoría de las veces se detecta al encontrar en el suero del paciente aloanticuerpos inesperados, por lo que será necesario buscar sangre compatible con fenotipo eritrocitario adecuado, para las subsiguientes transfusiones. Existe una serie de recursos y técnicas que permiten definir la especificidad del anticuerpo detectado: Investigación de aloanticuerpos en el suero utilizando paneles de eritrocitos con fenotipos conocidos y adicionando substancias que aceleran la reacción: Albúmina, enzimas, LISS (low ionic strength solution), técnicas de Adsorción-elusión e investigación del fenotipo eritrocítico del paciente empleando antisueros comerciales y mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

SUMMARY

There are two types of delayed hemolytic effects of transfusion: primary immunization and anamnestic response. The first is mild, occurs several weeks after transfusion and is the result of primary aloimmunization; antibodies are detectable no earlier than 7-10 days after transfusion and usually several weeks or months later. The degree of hemolysis depends on the amount of antibody produced and the amount of transfused cell remaining. The second type occurs in a previously immunized recipient who experiences an anamnestic, or secondary response to transfused red cell antigens. The blood bank may detect a delayed hemolytic reaction, through serologic findings in patients without symptoms; most of the cases are asymptomatic. Positive antibody detection tests and crossmatch incompatibilities might be noted. Elution and identification of the antibody is critical before having another transfusion. It is important to carry out antibody detection tests and compatibility tests with additional techniques by Low Ionic Strength Salt Solution or enzyme techniques.

La Norma Oficial Mexicana para la disposición de sangre humana¹ dispone en los párrafos 10.23 que: de presentarse una reacción transfusional inmediata debe realizarse su estudio integral; en el apartado 10.17 menciona: *Utilizar métodos de laboratorio capaces de demostrar la presencia de anticuerpos antieritrocitos clínicamente significativos* y en el 10.24: *La existencia de títulos bajos de anticuerpos en el suero del receptor, contra antígenos eritrocíticos del donante, pudieran no detectarse en las pruebas de compatibilidad. La transfusión de tales eritrocitos producirá un rápido incremento en la síntesis de anticuerpos, generándose una reacción hemolítica tardía.*

La reacción transfusional puede definirse como la aparición de signos y síntomas adversos asociados a la terapia transfusional. Éstos pueden ser inmediatos cuando aparecen en las primeras 24 horas y tardíos cuando se presentan después de ese tiempo. Pueden ser inmunológicas y no inmunológicas, estando en el primer grupo la aloinmunización contra antígenos eritrocitarios, leucocitarios, plaquetarios o proteínas plasmáticas.^{2,3} La reacción transfusional contra antígenos eritrocíticos puede pasar inadvertida durante el evento transfusional que después se traducirá en transfusiones ineficaces, elevación de bilirrubinas a expensas

Químico
 Farmacobiólogo
 Banco Central de Sangre
 del Centro Médico
 Nacional Siglo XXI,
 Instituto Mexicano del
 Seguro Social

Comunicación con:
 José Luis Alcaraz-López
 Tel.: 5627 6900,
 extensiones 21807 y
 21830
 Dirección electrónica:
 jaloz@prodigy.net.mx

Palabras clave:

- ✓ reacción transfusional
- ✓ anticuerpos antieritrocitos
- ✓ aloinmunización
- ✓ sistemas de grupos sanguíneos
- ✓ neocitos
- ✓ PCR

Key words:

- ✓ transfusion reaction
- ✓ anti-erythrocytes antibodies
- ✓ aloimmunization
- ✓ blood groups system
- ✓ reticulocytes
- ✓ PCR

de la bilirrubina indirecta, una prueba de anti-globulina humana positiva (Coombs directo positivo) y cuando están implicados los sistemas Duffy y Kidd puede presentarse hemólisis en el transcurso de las siguientes 72 horas, en ocasiones intravascular, con riesgo severo de la integridad física del paciente. En la mayoría de los casos se detecta a través de las pruebas de compatibilidad pretransfusional (prueba cruzada) cuando el paciente regresa para ser transfundido nuevamente, es entonces cuando se puede definir la especificidad del anticuerpo implicado y buscar sangre compatible por fenotipo y prueba cruzada compatible en las subsiguientes transfusiones.

Varios factores intervienen para determinar la magnitud de la reacción postransfusional: La cantidad del antígeno transfundido, la especificidad del antígeno implicado, la integridad del sistema inmune del paciente, la concentración del anticuerpo circulante, la baja concentración o la ausencia de complemento en el suero estudiado y los estímulos transfusionales previos en el paciente.⁴

El objetivo de este artículo es definir los posibles abordajes de laboratorio en pacientes con aloanticuerpos inesperados.

Generalmente la reacción hemolítica transfusional puede pasar inadvertida por ser producto de una respuesta primaria; se presenta después de varios días o semanas, dependiendo de la capacidad de respuesta del paciente, de la potencia del antígeno implicado y de la cantidad del antígeno extraño en circulación; puede ser producto también de una respuesta secundaria o anamnésica a antígenos conocidos previamente y los anticuerpos circulantes tienen muy baja concentración, de tal manera que las técnicas utilizadas en el laboratorio no son lo suficientemente sensibles para detectarlos.

La frecuencia de inmunización a diferentes antígenos fuera del sistema ABO y del antígeno Rho(D) varían de acuerdo a diferentes reportes mundiales:

Rodríguez Moyado ³	4 %
Radillo Gonzalez ⁴	1 a 1.6 %
Bonifaz Gracias ⁵	0.15 %
Alcaraz López ⁶	1.87 %

Consenso de expertos	1 en 2,500 unidades transfundidas
AMMTAC ²	
MF Murphy ⁷	1 en 1,900 unidades transfundidas
PL Mollison ⁸	2.4 %
AABB ⁹	1 a 1.6 %
Vox Sanguinis ¹⁰	4 %

Cuando se sospecha o se tiene la certeza de una reacción postransfusional tardía que pasó inadvertida, el protocolo de estudios de laboratorio que se deben realizar al paciente se divide en varios apartados:

- I Grupo ABO y Rho(D): observar si hay doble población de eritrocitos en los tubos de reacción o en las tarjetas de gel utilizadas.
- II Coombs directo: si la fecha de última transfusión fue realizada en los últimos cuatro meses, aun siendo esta prueba negativa se debe realizar el eluido para investigar la posible presencia de aloanticuerpos unidos a los eritrocitos del donador incompatible que todavía estén circulando en la sangre del paciente.
- III Investigación de anticuerpos irregulares libres en suero: debe realizarse por lo menos con dos técnicas tomando como base la Salina en las fases de 37 °C y Coombs, así como alguna otra técnica de mayor potencia para detectar específicamente anticuerpos de algún sistema en particular, basándose en el fenotipo del paciente, o para corroborar los encontrados con la técnica básica.

Tanto el suero en estudio como el eluido deben enfrentarse a eritrocitos de fenotipo conocido que incluya el mayor número posible de antígenos, tanto comunes como poco frecuentes en la población, de ser posible incluir fenotipos raros de los sistemas Diego, Kell, Colton, Cartwright, Sciana o Lutheran.

La albúmina polimerizada aumenta la probabilidad de detectar anticuerpos débiles después de incubarla por una hora a 37 °C y elevarla hasta la fase de Coombs. Generalmente detecta muy bien los anticuerpos del sistema Rh/Hr desde albúmina rápida, siendo un gran ahorro de tiempo en los casos urgentes. Esta técnica no es apropiada en

pacientes con problemas de mieloma múltiple o en linfomas, por la alta concentración de proteínas anormales en su suero ni en pacientes con IRC, porque se fija mucho complemento inespecíficamente; resalta las aglutinaciones de los anticuerpos fríos encontrándose incluso a 37 °C sin tener significado clínico relevante.

La bromelina y ficina en la fase de Coombs son excelentes para detectar anticuerpos del sistema Kidd. Los anticuerpos del sistema Rh/Hr se detectan muy bien en la fase de 37 °C. Destruye los sitios antigenicos de Duffy y MNS; tiene el inconveniente de incrementar las aglutinaciones de anticuerpos fríos como el anti-I, anti-i, anti-H, anti-P1; se fija complemento inespecíficamente en presencia de estos anticuerpos. Los controles de concentración de la enzima, los períodos de incubación y lavados deben ser estrictos, de lo contrario se obtendrán resultados erróneos. Los períodos de incubación son cortos, por lo que es una técnica rápida y muy efectiva para resolver la mayoría de los problemas, el tiempo máximo permitido cuando se realiza en una sola fase es hasta 35 minutos, con tiempos mayores se corre el riesgo de hemólisis y aglutinaciones inespecíficas por la acción de la enzima sobre el ácido siálico de la membrana de los eritrocitos. No se recomienda utilizarla en las pruebas cruzadas porque destruye los antígenos de los sistemas MNS y Duffy; además, puede confundir al personal con poca experiencia en su uso.

La solución de LISS (solución de baja fuerza iónica) es efectiva para la identificación de la mayoría de anticuerpos de clase IgG; es una técnica rápida, recomendable para su uso en pacientes que requieren sangre urgente, siempre teniendo el cuidado de recordar que no detecta bajas concentraciones de anticuerpos como el anti-s, anti-Duffy y anti-Kidd; incrementa la fijación de complemento, por lo que no es muy recomendable utilizarla en pacientes con IRC en tratamiento con diálisis reciente o en anemia hemolítica autoinmune con anticuerpos fríos.

En pacientes con anemia hemolítica autoinmune con anticuerpos detectables en el

suero se debe realizar autoadsorción a 4 °C y 37 °C con eritrocitos bromelizados para retirar el autoanticuerpo. Con el suero adsorto se realizará la investigación de aloanticuerpos.

IV Fenotipo eritrocítico: es recomendable realizar estos estudios con el mayor número de antisueros comerciales que se tengan; primero para corroborar la especificidad de los anticuerpos irregulares encontrados y en segundo lugar para transfundir al paciente con la sangre que tenga el mismo fenotipo del paciente en los grupos sanguíneos más peligrosos por ser causantes de hemólisis: ABO, D,C,E,c,e, K1, Jka, Jkb, Fya, Fyb, Dia, que son los que con mayor frecuencia encontramos en pacientes con estímulos transfusionales previos o en mujeres multiparas. Siempre se debe incluir un autotestigo para cada técnica y temperatura recomendada por el fabricante de los antisueros comerciales. En pacientes con transfusiones recientes se deben realizar fenotipos diferenciales de la superficie y del fondo del paquete de eritrocitos, tomando en cuenta que el mayor número de neocitos (reticulocitos) quedan en la superficie del paquete; éstos provienen del paciente y la mayor parte de los transfundidos quedarán en el fondo. Como un control para demostrar esto se puede realizar una cuenta de reticulocitos de las dos poblaciones de células para demostrar que existe un mayor número en la superficie que en el fondo; debemos considerar que esta técnica no es efectiva en pacientes con aplasia medular porque las cuentas no presentan ninguna diferencia. Una nueva tecnología que se está iniciando en nuestro país es la investigación del fenotipo eritrocítico mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR), con lo que se están logrando resultados excelentes en pacientes politransfundidos por aplasia medular, anemia hemolítica autoinmune y en trasplante de médula ósea, son algunos ejemplos de la aplicación de esta nueva tecnología.

V Sangre compatible: para fines prácticos y de abasto suficiente de concentrados eritrocitarios, a los pacientes con aloanticuerpos irregulares se les transfunde con grupo sanguíneo "O" y el Rho(D) (positivo o ne-

José Luis Alcaraz-López
Detección de reacción transfusional hemolítica tardía

gativo) igual al del paciente; deben carecer de los antígenos causantes de la reacción y de ser posible con ausencia de los antígenos que desconoce el paciente.

En las anemias hemolíticas autoinmunes, se debe informar por escrito al médico tratante que la sangre es compatible por fenotipos e incompatible por el autoanticuerpo. Cuando se cruzan varias sangres, las que fueron compatibles y que se enviarán a transfundir, se les debe tomar un nuevo piloto para ratificar su grupo ABO, Rho (D) y los fenotipos adecuados.

Referencias

1. Norma Oficial Mexicana NOM-003-SSA2-1993 para la disposición de sangre humana y sus componentes con fines terapéuticos. p. 38-40.
2. Recomendaciones para la Terapia Transfusional de Sangre y sus Componentes. Consenso de Expertos en Medicina Transfusional. Asociación Mexicana de Medicina Transfusional, AC. Comité de Medicina Transfusional de la AMEH; 2003. p. 36-48.
3. Rodríguez-Moyado R, Quintanar-García E, Mejía-Arregui M. El Banco de Sangre y la Medicina Transfusional. Distrito Federal, México: Médica Panamericana; 2004. p. 143-146.
4. Radillo-González A. Medicina Transfusional, Distrito Federal, México: Editorial Prado; 1999. p. 389-391.
5. Bonifaz-Gracias. Aspectos Clínicos en Medicina Transfusional. Distrito Federal, México: Intersistemas; 2004. p. 75-76.
6. Alcaraz-López JL, Bonilla R. Frecuencia de Anticuerpos irregulares antieritrocitos en pacientes ambulatorios. II Congreso Nacional de la AMMTAC. Trabajos libres. 2004: 27.
7. Murphy MF. Practical Transfusion Medicine. London, UK: Blackwell Science; 2002. p. 147-156.
8. Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. Blood Transfusion in Clinical Medicine. London United Kingdom: Tenth edition. Cambridge, Mass: Blackwell Scientific; 1997. p. 187-205.
9. Branch DR. Technical Manual, American Association of Blood Banks. Eleventh edition. Bethesda, Maryland; 2002. p. 471-487.
10. Robillard P, Ki-Nawei. Four year cumulative incidence of serious adverse transfusion events in the Wuebec hemovigilance system. Immunologic reactions to transfusion. Vox Sanguinis 2005; 89 (3): 12-14. 