

Primera versión: 31 de marzo de 2006  
 Versión definitiva: 18 de julio de 2006  
 Aceptado: 27 de julio de 2006

Javier  
 Bautista-Juárez

# Soluciones prácticas en el laboratorio de inmunohematología

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

Comunicación con:  
 Javier Bautista-Juárez  
 Tel.: 5639 3616,  
 Dirección electrónica:  
 javier\_bautista\_juarez@hotmail.com

## RESUMEN

La optimización de los insumos y muestras biológicas reactivas y de pacientes es indispensable en el laboratorio de cualquier institución. Sin embargo, esta optimización no se puede realizar sin los conocimientos básicos de control de calidad y sin una actualización periódica del personal operativo. Este artículo trata de mostrar algunos puntos clave que nos ayudarán a ahorrar tiempo y dinero en nuestros procedimientos de rutina, tales como el cuidado de las muestras de pacientes, uso de reactivos adecuados, conservación de células reactivas y conocimiento básico del panel de fenotipo conocido.

## SUMMARY

The optimization of supplies and biological reagent samples, as well as those of patients, is essential in any laboratory of any institution. However, such optimization cannot take place without basic knowledge of quality control and without a periodical update of operating personnel. This paper shows some key facts that will help us save time and money in our routine procedures, such as the proper care of the patients' samples, the use of adequate reagents, the conservation of reagent cells and some basic knowledge of the panel of known phenotype.

El objetivo principal de este artículo es brindar a los congresistas, herramientas de utilidad en sus labores diarias, sobre todo en los lugares donde los reactivos son de difícil adquisición, por lo que se espera que los siguientes puntos sean aplicables en sus centros de trabajo. Es importante saber que los resultados van a depender en gran medida de un buen control de calidad del material, equipo y reactivos, así como del uso adecuado de técnicas para la inducción de la reacción antígeno-anticuerpo.<sup>1,3</sup> El ahorro de reactivos y muestras biológicas es clave, ya que nos ayuda a optimizar insumos y a entregar componentes sanguíneos o resultados en tiempos congruentes a las necesidades del clínico.

1. Antisueros reactivos y células reactivas. Al referirnos a los reactivos es importante leer

siempre los insertos de los fabricantes (los cuales deben encontrarse en idioma español), un ejemplo de desviaciones en el que frecuentemente se incurre es el caso de los antisueros monoclonales, por tradición usamos dos gotas de cada antisuero para las pruebas de laboratorio, para la generalidad de los antisueros y para determinación de grupos sanguíneos; sin embargo, los insertos de los antisueros monoclonales recomiendan sólo una gota del mismo para su prueba,<sup>2</sup> por lo que al no respetar estas recomendaciones podemos caer en fenómenos de pre-zona o post-zona de la reacción antígeno-anticuerpo y no ver la reacción. Las células deben tener una concentración adecuada como se recomienda para cada procedimiento, por lo que conocer su preparación es fundamental.<sup>3</sup> Las muestras bio-

## Palabras clave:

- ✓ inmunohematología
- ✓ control de calidad

## Key words:

- ✓ immunohematology
- ✓ quality control

- lógicas deben ser almacenadas adecuadamente a temperaturas que nos ayudarán a mantener íntegras sus propiedades, tales como: antígenos, complemento, integridad física, etc.<sup>1</sup>
2. Para la determinación del antígeno D del sistema Rh-Hr es importante tener en nuestra reserva dos antisueros diferentes: uno que tenga anticuerpos clase IgM (monoclonal), el cual nos ayudará a detectar el anticuerpo fácilmente en la rutina diaria, y otro antisuero que contenga únicamente anticuerpos clase IgG (el cual sí se incuba a 37 °C) o que se encuentre mezclado con IgM (policlonal), para usarse en los casos que se quiera buscar la forma débil de D ya sea por epítopes deleidos y/o por disminución de sitios antigenicos.<sup>1,2</sup> Otros reactivos de utilidad y que no siempre son comprados o preparados de forma casera adecuadamente, son los eritrocitos sensibilizados (células control de Coombs), los cuales deben ser preparados con eritrocitos del grupo "O" Rho (D) positivos, incubados posteriormente con anticuerpos anti-D clase IgG, que en los lugares que se produce a gran escala se utiliza como fuente de anticuerpos al RhoGAM.<sup>2</sup> Es importante aclarar que no se deben de utilizar antisueros monoclonales IgM o policlonales para la producción de estas células reactivas, ya que al unirse los anticuerpos IgM a los antígenos eritrocitarios, el suero de Coombs (anti-IgG y anti-C') no reacciona adecuadamente con estas células.<sup>2</sup>
  3. Otra solución práctica en el laboratorio es la conservación adecuada de nuestras células reactivas; sean células sensibilizadas, del sistema ABO o de fenotipo conocido (panel), sin que éstas se deterioren fácilmente. La preparación de aditivos recomendados en manuales es ideal, como el ALSEVER; sin embargo, los reactivos para su preparación no siempre estarán al alcance de nuestras instituciones, por lo que la búsqueda de otras opciones es viable.<sup>1</sup> En forma personal recomiendo el uso de aditivos como el ADSOL (solución conservadora con adenina), reactivo que normalmente desecharmos cuando algún donador por cualquier circunstancia no termina una donación y que se encuentra en la bolsa satélite en el "kit" de sangrado.<sup>2</sup> El resuspender nuestras células en esta solución aditiva, lavando previamente con solución fisiológica, nos ayudará a mantenerlas en buen estado durante un tiempo mínimo de dos semanas.
  4. El uso de técnicas de eluido con solventes como éter y cloroformo para obtener resultados rápidos y confiables son necesarios en los laboratorios de inmunohematología con bajos recursos.<sup>1,2</sup>
  5. Muestras biológicas. Los sueros de pacientes, que a diferencia de los sueros comerciales se deben congelar, tienen que homogeneizarse bien después de ser descongelados y centrifugarse para eliminar la fibrina formada, esto ayudará a evitar resultados falsos positivos por los eritrocitos que atraparía la misma fibrina, lo que ocasionaría en el laboratorio retraso del resultado y/o del producto, además de la consecuente repetición de la prueba.<sup>1</sup> Todas las muestras refrigeradas a 4 °C con glóbulos rojos deben lavarse con solución fisiológica antes de ser mezcladas con sueros de pacientes, ya que al haberse mantenido a bajas temperaturas (1 a 6 °C) inducen a que los anticuerpos fríos y las crioaglutininas se fijen a los antígenos específicos, lo cual provoca lecturas positivas que no son causadas por el suero (anticuerpos) del paciente sino por el suero (anticuerpos) del mismo donador, lo cual genera también el retraso del producto y/o del resultado, además de la repetición de la misma.<sup>1</sup> Recordemos que las personas pueden tener autoanticuerpos fríos contra antígenos eritrocitarios que no tienen significancia clínica.
  6. Células de fenotipo conocido. Cuando se detectan problemas pretransfusionales en el suero de pacientes, el rastreo de anticuerpos irregulares debe realizarse en el mismo centro hospitalario donde se encuentra el paciente, con la finalidad de retrasar lo menos posible la transfusión del producto solicitado.<sup>3</sup> Por lo que el saber realizar la búsqueda de anticuerpos e interpretar correctamente la carta de panel adecuada es indispensable en cualquier servicio de transfusión en nuestro país. Existen diferentes paneles de eritrocitos con fenotipo conoci-

do que van desde dos hasta veintidós donadores diferentes. Sus principales características son: la de arrojar sólo un resultado positivo o negativo para cada antígeno, poder tener la especificidad correcta del anticuerpo, o incluso hasta discernir la mezcla de anticuerpos en casos más complicados.<sup>3</sup> Conocer las características más importantes de la producción de un panel de fenotipo conocido, así como su carta de lectura correspondiente ayuda en gran medida a resolver los casos de los anticuerpos presentes en el suero problema. Existen paneles de células para anticuerpos naturales regulares (sistema ABO), paneles de células para el antígeno D del sistema Rh (con células homocigotas y heterocigotas), paneles con células sensibilizadas (células control de Coombs) con anticuerpos clase IgG (RhoGAM) y paneles de fenotipos conocidos diferentes a los del ABO.<sup>1,3-5</sup> Este

último panel es el más usado para la búsqueda de anticuerpos inmunes (rastreo de anticuerpos o Coombs indirecto), la cantidad de células (donadores) es variable en cada panel, pero existen desde dos hasta veintidós, todos deben ser donadores de grupo “O” y existir, si es posible, por lo menos una muestra positiva y otra negativa para cada antígeno, tienen que acomodarse las células de tal forma que no se repita ninguna imagen para cada antígeno determinado; si se utiliza un semipanel o células para tamizaje debe haber células con antígenos positivos para cada caso.<sup>3-5</sup> Si se emplea un panel para la determinación de anticuerpos fríos y/o con anticuerpos involucrados con las anemias hemolíticas autoinmunes se está obligado a disponer de: células de rata para obtener antígenos “i”, células de carnero para contar con antígeno “I” además de células de recién nacido, para conseguir cé-

Javier Bautista-Juárez.  
Soluciones prácticas en  
el laboratorio de  
inmunohematología

	C	D	E	<u>c</u>	<u>e</u>	M	N	S	<u>s</u>	P <sub>1</sub>	Fy <sup>a</sup>	Fy <sup>b</sup>	K	<u>k</u>	Jk <sup>a</sup>	Jk <sup>b</sup>	Le <sup>a</sup>	Le <sup>b</sup>	Di <sup>a</sup>	H	A	B	I	i	
1	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	
2	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	
3	-	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+	-	
4	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	
5	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	
6	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	
7	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	
8	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	
9	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	
10	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	
cH																				+	-	-	-	+	
cA																				-	+	-	-	+	
cB																				-	-	+	-	+	
Ca	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	
Ra	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
AT																									

Figura 1. Carta de panel para identificación de anticuerpos.

lulas con antígeno “i” y ABH.<sup>1,3-5</sup> Normalmente se trata de poner los antígenos más frecuentes en la población; sin embargo, mientras se cuente con más antígenos es mejor, sin dejar de incluir los de importancia en la población en estudio.<sup>3,4</sup> En los paneles con muy pocas células, por lo menos debe existir una célula con el antígeno presente. En el caso de paneles con mayor número de células tiene que haber una célula con el antígeno positivo y una con el antígeno negativo. En paneles bien estructurados se incluyen células con antígenos expresados de forma homocigota y/o heterocigota para poder diferenciar el fenómeno de dosis que se presenta en algunos anticuerpos.<sup>4,5</sup> La figura 1 nos muestra una carta del panel de eritrocitos de fenotipo conocido que se usa normalmente en el Banco Central de Sangre del CMN siglo XXI del IMSS; este panel se prepara cada 45 días y permite la identificación de los anticuerpos presentes en los pacientes con problemas transfusionales. En cada ocasión se busca el equilibrio de los diferentes antígenos eritrocitarios tal como hemos explicado; la primera línea de esa figura nos muestra los antígenos eritrocitarios presentes de acuerdo a la nomenclatura internacional.

Es importante incluir en los paneles de uso diario, antígenos de importancia para el paciente en estudio. Cuando se sospecha de algún anticuerpo en especial se puede preparar un panel dirigido, en el cual se incluirán células positivas homocigotas y heterocigotas, además

de un negativo. Cuando se sospeche de anticuerpos fríos o de anticuerpos causantes de anemias hemolíticas autoinmunes es necesario el uso de células de placenta humana y células de animal.<sup>1,3</sup>

## Corolario

La calidad del trabajo que se realiza en los laboratorios de inmunohematología debe estar siempre basada en el conocimiento científico del fundamento de las pruebas que se realizan, en este caso hemos revisado de manera sencilla algunos aspectos prácticos que nos ayudan en el trabajo diario; sin embargo, es imperativa la revisión constante y la comprensión de los fundamentos científicos de nuestro diario “quehacer”.

## Referencias

1. Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. *Blood Transfusion in clinical medicine*. Tenth edition. Gran Bretaña: Edit. Blackwell Science; 1997.
2. Brecher ME. *Technical Manual*. Fourteenth edition. Bethesda, Maryland: American Association of Blood Banks; 2003.
3. Medicina Transfusional: de lo básico a lo complejo. III Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Medicina Transfusional A.C. Rev Med IMSS 2005; 43 (Supl. 1).
4. Martínez-Murillo C, Quintana-González SE, et al. *Tópicos selectos de Medicina Transfusional*. México, D.F.: Prado; 2002.
5. Rodríguez-Moyado H, Quintanar-García E, Mejía-Arregui MH. *El Banco de sangre y la medicina transfusional*. México, D.F.: Panamericana; 2004. 

