

# Pruebas de compatibilidad, ¿qué técnica emplear?

## **XIV Jornadas de Medicina Transfusional**

Dra. Carmen Buesa García  
S<sup>o</sup> Hematología y Hemoterapia  
Hospital Universitario Central de Asturias

# Pruebas pretransfusionales

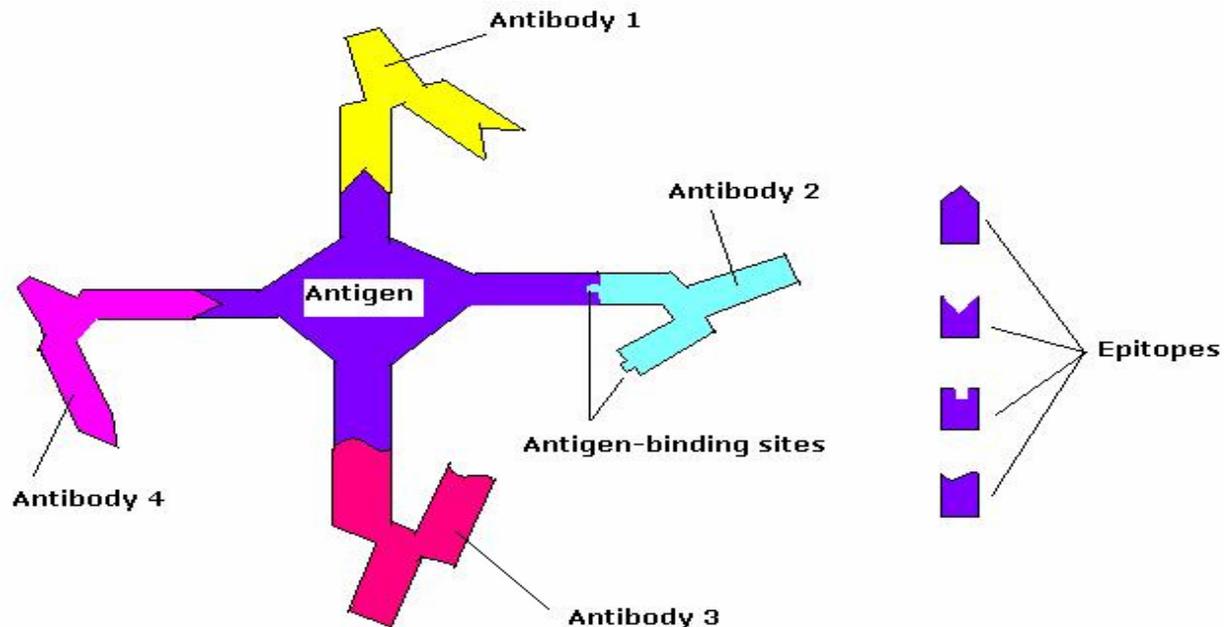
- **Objetivo:** seleccionar para cada receptor los componentes sanguíneos adecuados de forma que una vez transfundidos no produzcan una destrucción clínicamente significativa de las células del receptor y tengan una supervivencia óptima.
- La parte más importante del proceso es la correcta **identificación** del paciente, tanto al extraer la muestra como al administrar el componente sanguíneo.
- Además, se requiere la correcta realización de las **pruebas de compatibilidad**.

# ¿Qué pruebas podemos hacer?

1. Estudio de grupos sanguíneos: antígenos (AG)  
y anticuerpos (AC)
2. Escrutinio de anticuerpos irregulares (EAI)
3. Pruebas cruzadas (PPCC)

# ESTUDIO DE LOS GRUPOS SANGUÍNEOS

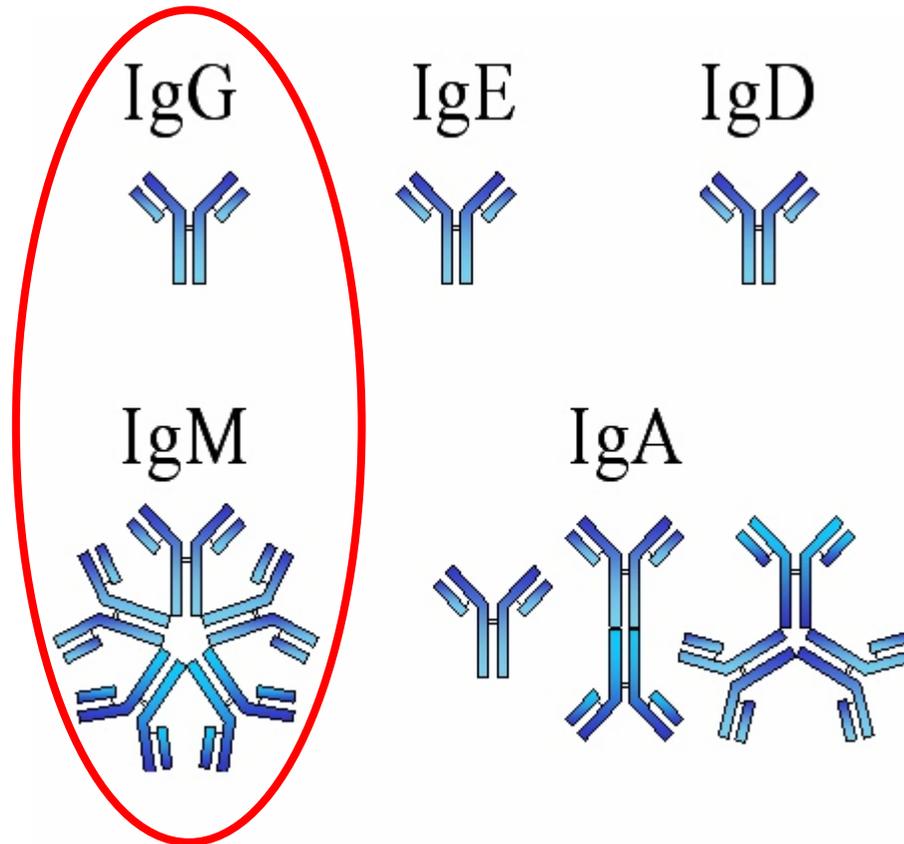
- **ANTÍGENOS:** sustancias capaces de producir una respuesta inmune específica, formación de un anticuerpo



- Composición de los antígenos:

Un solo tipo de moléculas	Moléculas compuestas
Proteínas (Rh)	Glucolípidos (P1)
Glúcidos (ABO)	Glicoproteínas (K)
Ácidos nucleicos	Lipoproteínas
Lípidos	Otros

- ANTICUERPOS: proteínas plasmáticas formadas como respuesta a la entrada de un antígeno.



## Origen

Regulares/Naturales

Anti-A y anti-B, definen el grupo sérico.  
**IgM o IgM + IgG.**

Irregulares

Aparecen tras el contacto con hematíes portadores del antígeno extraño (transfusiones, embarazo).  
Habitualmente, **IgG.**

## Acción

Aglutinantes o completos

Casi siempre **IgM**

No aglutinantes o incompletos

Requieren otras técnicas para poder observar la aglutinación, **IgG**

# Reacción *in vitro* AG-AC:

Reacción reversible

1º sensibilización de los hematíes: el AC se fija a los antígenos de la membrana del hematíes

2º aglutinación

# 1º Factores que afectan a la fase de sensibilización

---

<b>pH</b>	<b>Se requiere pH 6,9-7,2 para la fase de sensibilización</b>
<b>Tiempo</b>	<b>15 a 60 minutos, según el AC (sin potenciadores)</b>
<b>Proporción entre AG y AC</b>	<b>Relación entre nº moléculas del AC y lugares antigénicos de los hematíes</b>
<b>T<sup>a</sup></b>	<b>Grado térmico óptimo para cada anticuerpo</b> <b>ACs fríos: M, N, P</b> <b>ACs calientes: Rh, Jk, K</b>

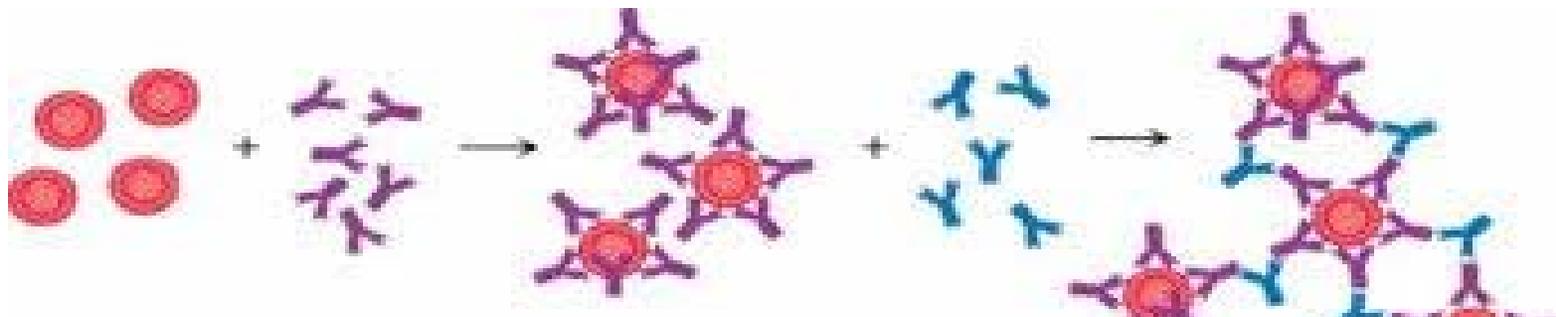
Constante  
de  
afinidad

A mayor afinidad, más rápida es la velocidad de  
asociación y más lenta la de disociación

Tipo y  
naturaleza  
del AC

Aglutinante/completo: IgM, solución salina

No aglutinante/incompleto: IgG, necesitan  
potenciadores macromoléculas, enzimas, AGH



AG

AC

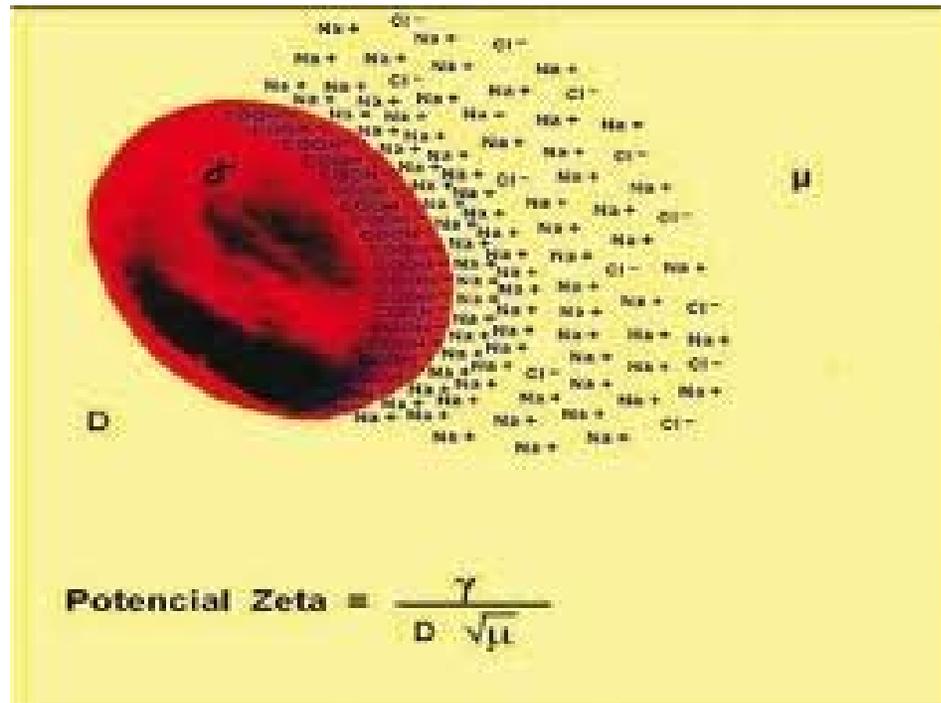
No aglutinación

AGH

Aglutinación

## 2º Factores que afectan a la fase de aglutinación

- Intensidad iónica del medio (potencial Z)
  - Diferencia de potencial entre el hematíe con carga negativa y rodeado de una nube de carga positiva y el medio.



---

**Potencial**

Responsable de la fuerza de repulsión de los hematíes

**Z**

---

La distancia entre los hematíes es proporcional al potencial Z

IgM siempre pueden producir aglutinación

---

IgG en función de la localización el epítipo del antígeno

---

# ¿Cómo modificamos la reacción AG-AC?

## Medios de suspensión

- Albúmina
- LISS

## Utilización de Enzimas

- **Albúmina:**
  - Disminuye el potencial Z.
  - Permite que AC IgG unan hematíes adyacentes
  
- **LISS (solución de baja fuerza iónica):**
  - Disminuye la nube iónica alrededor del hematíe
  - Acorta tiempo de sensibilización
  - Se puede usar como líquido de suspensión de los hematíes

## ■ Enzimas:

- Los más utilizados: ficina, bromelina, papaína, tripsina, neuraminidasa
- Eliminan cargas negativas disminuyendo el potencial Z
- Algunas eliminan ciertos antígenos (ayuda en identificación de ACs)
- Detectan anticuerpos no deseados
- Requieren una manipulación cuidadosa

---

## **Bromelina:**

**Potencia ACs Rh**

**Debilita o anula ACs anti- Fy<sup>a</sup>, Fy<sup>b</sup>, M, N, S**

---

## **Ficina y papaína:**

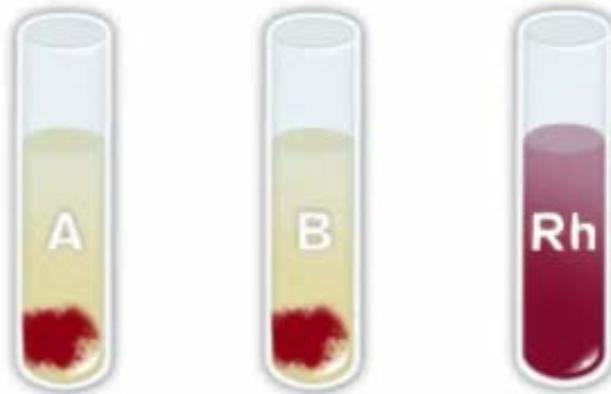
**más utilizados en la identificación de AAI**

# MÉTODOS PARA OBSERVAR LA AGLUTINACIÓN

- Técnicas en tubo
- Aglutinación en columna
- Técnicas en microplacas

# Técnicas en tubo

1. Hematíes + suero/plasma
2. Incubación
3. Centrifugación



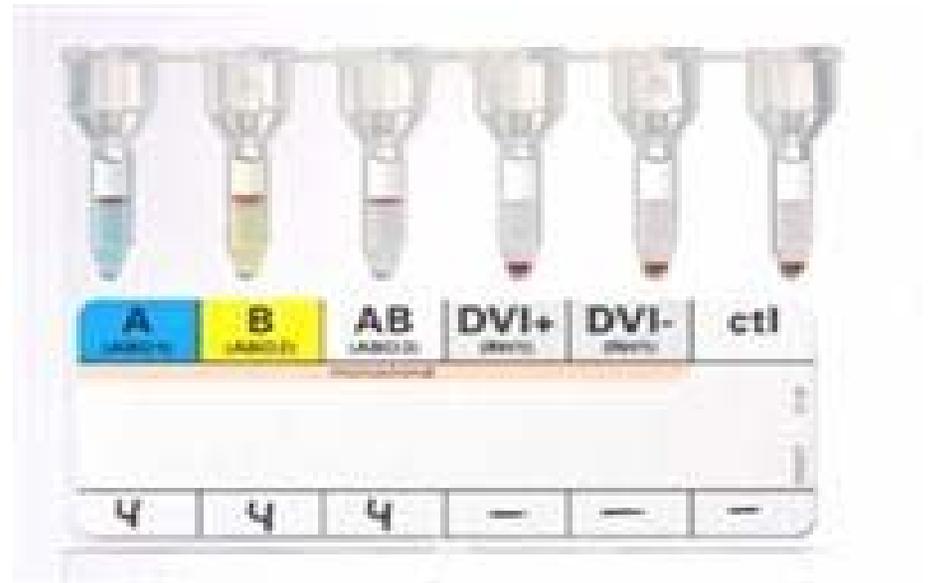
4. Lectura e interpretación del resultado

## Es la técnica standard

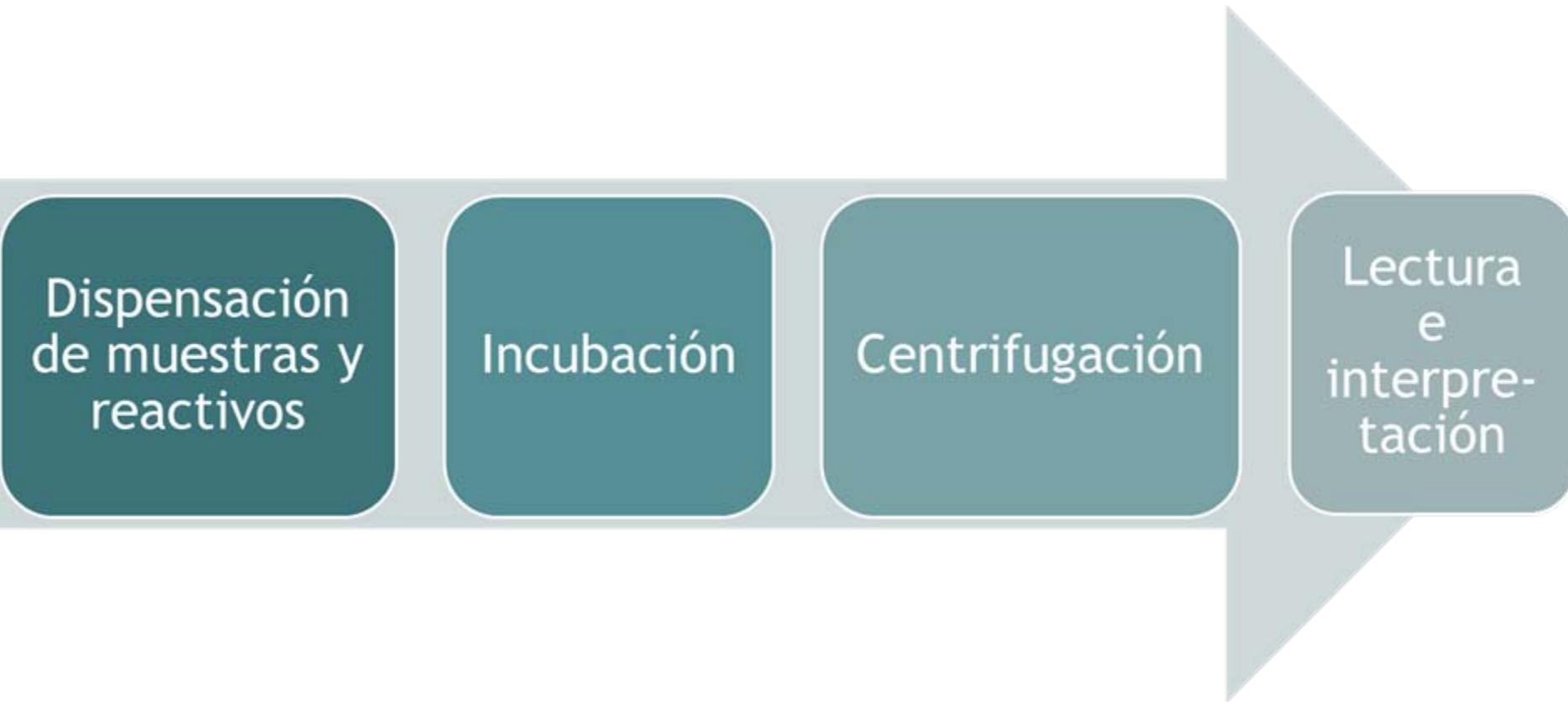
VENTAJAS	DESVENTAJAS
Se pueden añadir aditivos para potenciar la reacción: LISS, enzimas, AGH	La aglutinación es inestable
Permite la manipulación	Requiere manipulación y lectura cuidadosa
Es visible la hemolisis	Utiliza una cantidad importante de hematíes y suero

# Aglutinación en columna

- La aglutinación se produce en gel
- Las columnas se presentan en tarjetas de 6 - 8 determinaciones
- Existen gran variedad de tarjetas en el mercados para realizar la mayor parte de las pruebas inmunohematológicas



- Equipos automáticos o semi-automáticos



- Incubación hematíes + AC en la superficie del gel. Las células aglutinadas no pueden pasar a través del gel tras la centrifugación.

VENTAJAS	DESVENTAJAS
Utilizan aditivos (LISS, EDTA) para aumentar la sensibilización, disminuyendo el tiempo de incubación	Precio del equipamiento (equipos automáticos o semiautomáticos)
La reacción es semipermanente y necesita pequeñas cantidades de reactivo	Son muy sensibles y pueden detectar anticuerpos que no son clínicamente significativos
Permite automatización	

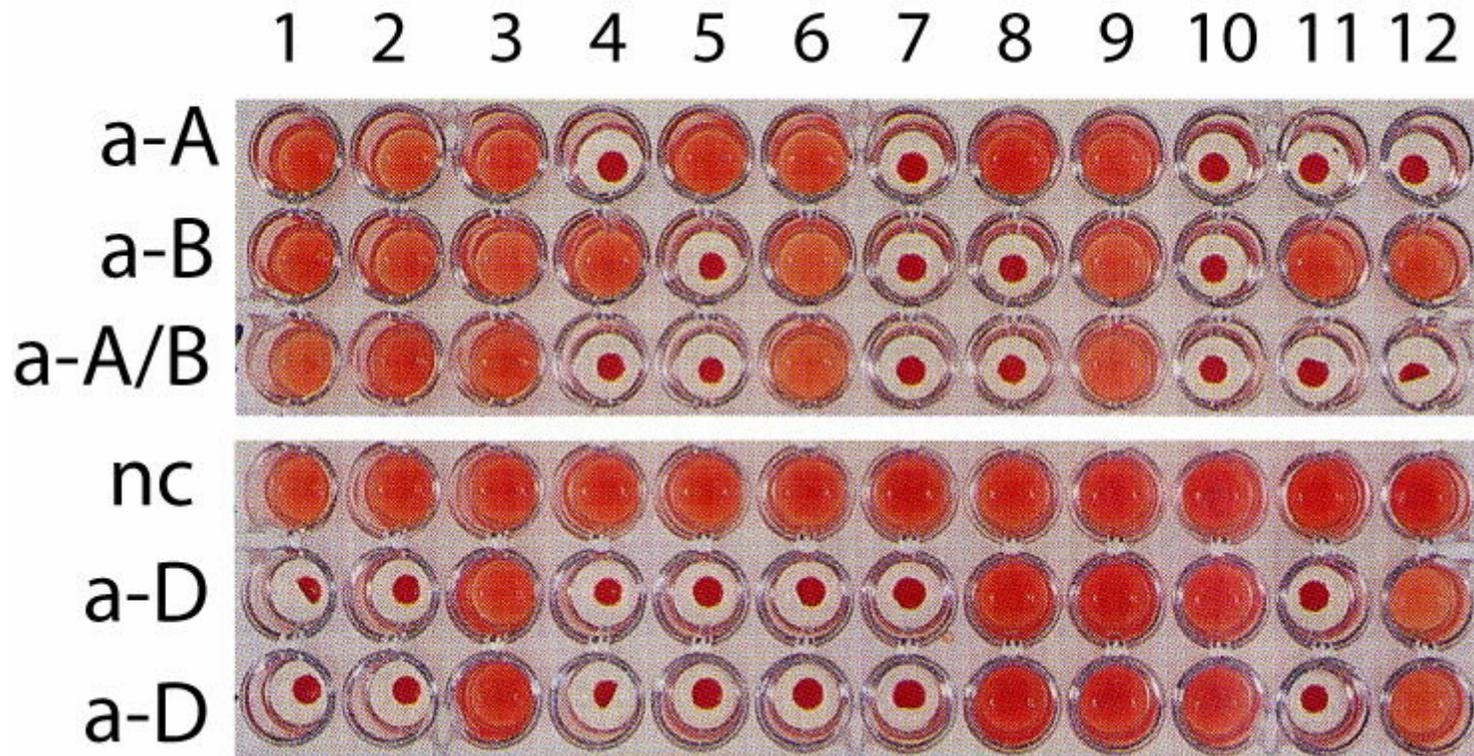
# Otra técnica en columna

## Test de afinidad en columna

- Hematíes sensibilizados se unen a una matriz inmunológicamente activa: Proteína G o A (*Staphylococcus aureus*), antiIgM y antiC3d.
- Incubación (AG-AC)
- Centrifugación en 3 fases
  - 1º hematíes atraviesa el medio de alta densidad que los separa del gel
  - 2º y 3º hematíes sensibilizados se unen a la matriz de alta afinidad y quedan en la parte alta del gel

# Microplacas

- Permite automatización y se usan para grandes series de muestras



- La aglutinación se produce en los pocillos
- Los reactivos están unidos a la superficie de los pocillos

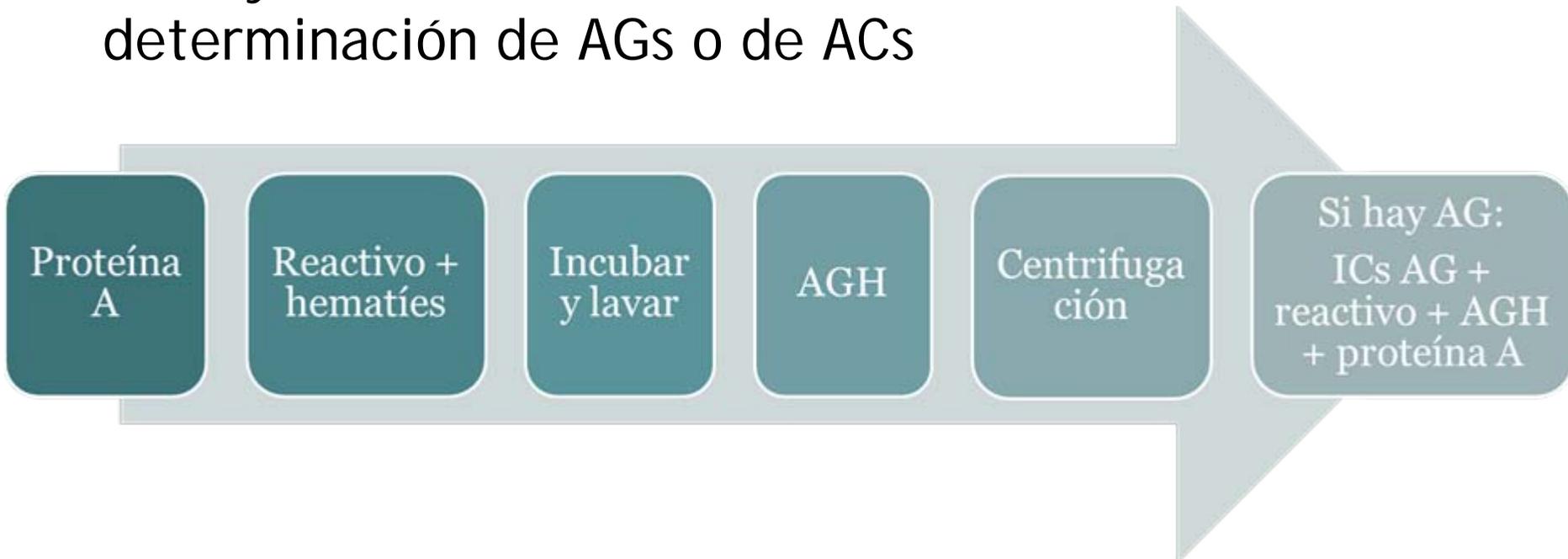


## CON CENTRIFUGACIÓN

- Tipaje ABO-Rh:



- Ensayos de adherencia en fase sólida: determinación de AGs o de ACs



# SIN CENTRIFUGACIÓN

## ■ Uso de hematíes magnetizados

Utilización de partículas de Fe que se absorben a la mb del hematíe

ACs Mo -  
AG  
AGH -ACs

Microplaca en  
contacto con placa  
magnética

AG-AC

# ¿Qué técnica es la mejor?

- Múltiples estudios comparando las tres técnicas
- Mayor sensibilidad en columna y microplaca (EAI)
  - Aumenta n° de falsos positivos
  - No implica mayor seguridad en la transfusión, no está claro si ACs detectados con algunas técnicas van a tener trascendencia *in vivo*
  - Aumenta trabajo en el laboratorio y retrasa la transfusión PERO PERMITEN AUTOMATIZACIÓN

# Automatización de las pruebas básicas

- Permiten analizar mayor número de muestras
- Reducen trabajo manual
- Mejoran la precisión
- Utilizan métodos estandarizados
- Eliminan subjetividad en interpretación de resultados
- Mínima manipulación de las muestras
- Trazabilidad

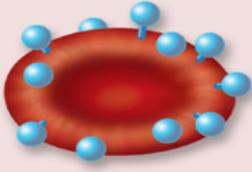
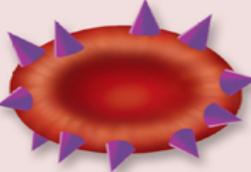
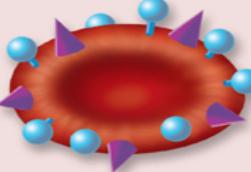
# PRUEBAS SEROLOGICAS

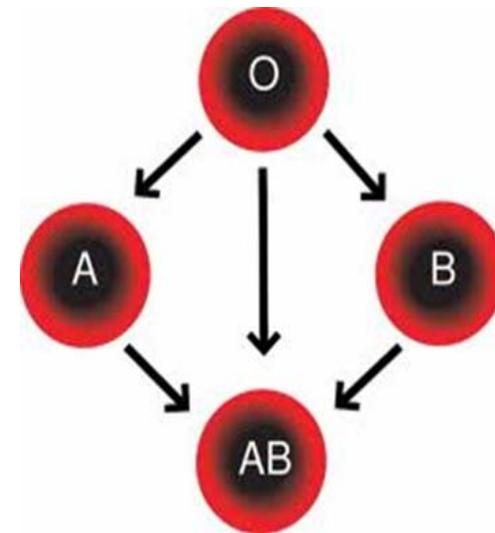
- ❑ DETERMINACIÓN DE GRUPO ABO y Rh
- ❑ ESCRUTINIO DE ANTICUERPOS IRREGULARES
- ❑ PRUEBAS CRUZADAS

# ❑ Determinación del grupo ABO

- **Grupo directo/hemático:** presencia de antígenos del grupo ABO
- **Grupo inverso/sérico:** presencia en el suero o plasma de ACs frente a AGs del grupo ABO

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

ABO Blood Types				
	Antigen A	Antigen B	Antigens A and B	Neither antigen A nor B
Erythrocytes				
Plasma	Anti-B antibodies 	Anti-A antibodies 	Neither anti-A nor anti-B antibodies	Both anti-A and anti-B antibodies 
Blood type	<b>Type A</b> Erythrocytes with type A surface antigens and plasma with anti-B antibodies	<b>Type B</b> Erythrocytes with type B surface antigens and plasma with anti-A antibodies	<b>Type AB</b> Erythrocytes with both type A and type B surface antigens, and plasma with neither anti-A nor anti-B antibodies	<b>Type O</b> Erythrocytes with neither type A nor type B surface antigens, but plasma with both anti-A and anti-B antibodies



## ❑ Escrutinio de anticuerpos irregulares (EAI)

- Detectar la presencia en el suero de aloanticuerpos inesperados dirigidos contra antígenos que no sean del grupo ABO.
- Transfusiones previas, embarazo.
- Se utilizan muestras de sangre con una composición antigénica conocida: paneles de células distintas con combinaciones de AGs.

- Composición antigénica del panel: D, C, c, E, e, Kell, k, Le<sup>a</sup>, Le<sup>b</sup>, Jk<sup>a</sup>, Jk<sup>b</sup>, Fy<sup>a</sup>, Fy<sup>b</sup>, P1, M, N, S y s.
- Efecto dosis: un AG que se presenta de forma heterocigota, al poseer la mitad de "dosis" puede dar negativo en el panel (E, Jka) → deben incluir al menos una homocigota para Fy<sup>a</sup>, Fy<sup>b</sup>, Jk<sup>a</sup>, Jk<sup>b</sup>, D, c, S y s.



## ❑ Prueba cruzada

- Objetivo: Demostrar *in vitro* que una sangre no va a ser perjudicial *in vivo* para el paciente
- Se realizaban en diferentes fases (salino, Coombs).

\* Estudios no han demostrado reacciones relevantes en caso de transfusión con EAI (-) y PPCC (+) *a posteriori*

### Recomendaciones de la AABB

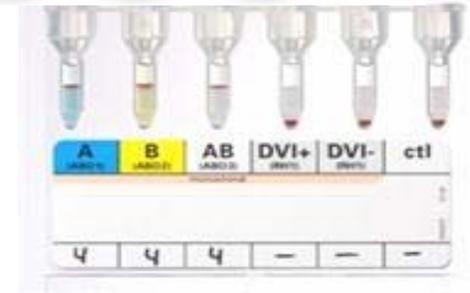
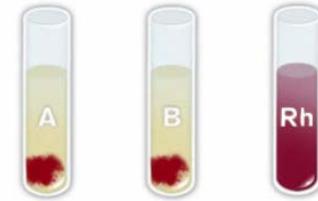
1. EAI positivo: PPCC con AGH
2. EAI negativo: Salino rápido o PC electrónica

# Prueba cruzada electrónica

- Se considera un método válido siempre que se disponga de un **sistema informático** correctamente validado y controlado
- La **compatibilidad ABO-Rh** se basa en los datos registrados en el sistema informático
- Los datos se obtienen mediante **pruebas serológicas** realizadas al donante y al receptor
- El sistema informático **interpreta los resultados** en función de unas normas predeterminadas
- Si no se cumplen, emite un **sistema de alerta** e impide la liberación del hemocomponente no compatible

## ❑ Requisitos para PC electrónica:

- Pacientes que poseen dos determinaciones de grupo ABO-Rh y en los que se ha demostrado la ausencia de AAI en el suero
- No pueden ser incluidos cuando:
  - Muestra extraída antes de las 72 h previas
  - No existen dos determinaciones del grupo ABO y Rh
  - Se demuestra la presencia o historia anterior de AAI en el suero
  - Pacientes sometidos a trasplante de médula ósea y cuyo grupo ha cambiado



Muchas gracias por vuestra atención

