

Revista Argentina de Transfusión

Vol. XXXVIII
2012

N° 3

aah 40 años

Asociación Argentina de Hemoterapia e Inmunohematología

Lavalleja 1214 (C1414DTZ) Ciudad Autónoma de Buenos Aires Argentina
Tel/Fax: (54-11) 4771-2501 - Líneas rotativas - E-mail: aahi@aahi.org.ar



Sumario

- 193** Editorial
Historia de la educación médica.
Profesor Emérito Dr. Buzzi, Alfredo
- 199** Caracterización de los antígenos específicos del neutrófilo NA1, NA2 y SH en la población argentina.
De La Vega Elena, Carlos Daniel; Nogués, Nuria; Fernández Montoya, Antonio; Oyonarte, Salvador; Solis, Edita; Muñiz-Díaz, Eduardo
- 205** Grupo Cooperativo Iberoamericano de Medicina Transfusional. Programa Consulta al Experto. Seguimiento de donantes con pruebas de cribado alteradas.
Coordinadora: Dra. León de González, Graciela; Profesor invitado: Dr. Álvarez, Manuel
- 211** Lectina de *Arachis hypogaea* para estudiar la activación de criptoantígenos eritrocitarios por enzimas bacterianas.
Balaguera Gualteros, Angela; García Rosasco, Marcela; Valverde, Juana
- 215** Incidencia de donaciones de sangre con prueba de antiglobulina directa positiva.
Cerdas-Quesada, César; Balaguera Gualteros, Ángela
- 217** Artículos de Revisión
Activación de antígenos T en neonatos con poliaglutinación y enterocolitis necrotizante.
Balaguera Gualteros, Angela; García Rosasco, Marcela; Valverde, Juana
- 223** Presentación de casos
Anticuerpos dependientes de fármacos: Anticuerpos anti-trimetoprima/sulfametoxazol detectados al usar diluyente comercial de glóbulos rojos.
Dr. Cerdas-Quesada, César
- 227** Presentación de casos
Crioaglutininas en donantes: formación de agregados en la unidad de glóbulos rojos desplasmatisados y en la guía para transfusión.
Dr. Cerdas-Quesada, César
- 231** Antecedentes históricos de nuestra Revista
La exanguinotransfusión en la enfermedad hemolítica del recién nacido.
Dr. Stiefel, Otto M.; Dr. Pereira, Julio C.; Dr. Osácar, Ernesto M.; Dr. Massa, Raúl G.
- 247** Antecedentes históricos de nuestra Revista
La transfusión de glóbulos rojos sedimentados en el tratamiento de la enfermedad hemolítica del recién nacido.
Dr. Linares Garzón, Humberto

Contents

- 193** Editorial
History of the medical education.
Profesor Emérito Dr. Buzzi, Alfredo
- 199** Characterization of neutrophil-specific antigens NA1, NA2 and SH in the Argentinean population.
De La Vega Elena, Carlos Daniel; Nogués, Nuria; Fernández Montoya, Antonio; Oyonarte, Salvador; Solis, Edita; Muñiz-Díaz, Eduardo
- 205** Ibero-American Cooperative Group on Transfusion Medicine: Consulting the Expert. Follow up of blood donor with altered screening tests.
Dr. Álvarez, Manuel
- 211** *Arachis hypogaea* lectin for studying red blood cells cryptoantigens activation by bacterial enzymes.
Balaguera Gualteros, Angela; García Rosasco, Marcela; Valverde, Juana
- 215** Incidence of blood donations with positive direct antiglobulin test.
Cerdas-Quesada, César; Balaguera Gualteros, Ángela
- 217** Reviews
T antigen activation in newborns with polyagglutination and necrotizing enterocolitis.
Balaguera Gualteros, Angela; García Rosasco, Marcela; Valverde, Juana
- 223** Case report
Drug dependent antibodies: antibodies anti-trimethoprim / sulfamethoxazole) related to the presence of the drug in a commercial red blood cells solution.
Dr. Cerdas-Quesada, César
- 227** Case report
Cold agglutinins in blood donors: presence of aggregates in blood cells unit and transfusion set.
Dr. Cerdas-Quesada, César
- 231** Historical background of our Journal
Blood exchange in the hemolytic disease of the newborn.
Dr. Stiefel, Otto M.; Dr. Pereira, Julio C.; Dr. Osácar, Ernesto M.; Dr. Massa, Raúl G.
- 247** Historical background of our Journal
Red blood cells transfusion in the treatment of the hemolytic disease of newborn.
Dr. Linares Garzón, Humberto



Staff

Secretaría de Publicaciones: Dra. Sebastiana Azzaro

Comité de Redacción: Dra. Silvina Kuperman, Dr. Daniel Fernández, Dra. Rosana Clapsos y Dra. Anabel Buceta.

Corresponsales Nacionales: Salvador S. Minoldo (*Prov. de Córdoba*), Juan C. Balbi (*Prov. de Corrientes*), Nancy Dahne (*Prov. de Chaco*), Guillermo Oscar Manera (*Prov. de Chubut*), Pedro Negri Aranguren (*Prov. de Entre Ríos*), Ida Severich (*Prov. de Jujuy*), Nicolás Marquesoni (*Prov. de La Pampa*), Ana María Pozzi (*La Plata, Prov. de Bs. As.*), Martha Romero Ríos (*Prov. de Mendoza*), Richard Malan (*Prov. de Misiones*) Ricardo Niborski (*Prov. de Río Negro*), Martín de la Arena (*Prov. de Salta*), María del Rosario Rocca (*Prov. de San Juan*), Elsie Mitchell (*Prov. de Santa Fe*), Néstor Bouzón (*Prov. de Santiago del Estero*).

Corresponsales Extranjeros: Romeu Ibrahim de Carvalho (*Brasil*), Cristina Martínez (*Chile*), Marcela García Gutiérrez (*Colombia*), Alfonso Duran Forn (*Costa Rica*), María Dolores Nieto Gallegos (*Ecuador*), Eduardo Muñoz y Elena Franco (*España*), Benjamín Lichtiger (*Estados Unidos*), Marcela Contreras (*Gran Bretaña*), Claudio Velati (*Italia*), Juan-Claude Faber (*Luxemburgo*), Andrés Bico Uribe (*Uruguay*), Graciela León de González (*Venezuela*).

Asociación Argentina de Hemoterapia e Inmunoematología

Personería Jurídica IGPJ N° 256 - Miembro Institucional de la Asociación Americana de Bancos de Sangre (AABB). Miembro Institucional de la Sociedad Internacional de Transfusión Sanguínea (SITS).

Comisión Directiva: *Presidente:* Dr. Oscar Walter Torres - *Vicepresidente 1°:* Dra. Mónica Puppo - *Vicepresidente 2°:* Dr. Juan Carlos Balbi - *Secretaría General:* Dra. Gabriela Dabusti - *Prosecretaria Gral.:* Dra. Rosana Clapsos - *Tesorero:* Dr. Silvio Rosell - *Protesorero:* Dr. Ariel Fuertes - *Secretaría Científica:* Dra. Claudia F. Bastos - *Secretario de Actas:* Dr. Víctor H. Molina - *Prosecretario de Actas:* Dr. Federico Dimase - *Secretaria de Asuntos Internacionales:* Dra. Patricia Epstein - *Secretario de Asuntos Profesionales:* Dr. Félix A. Núñez - *Secretario de Prensa y Relaciones Públicas:* Dr. Fabián Romano - *Secretaría de Publicaciones:* Dra. Sebastiana Azzaro - *Vocales Titulares:* Dr. Omar Trabadelo, Dra Estela González - *Vocales Titulares por el Interior:* Dr. Horacio Correa Uranga, Dr. Richard M. Malán.

Organo de Fiscalización: *Titulares:* Dra. María del R. Roca, Dra. Susana Porrino, Dr. Ricardo Niborski - *Suplente:* Dra. Ana Ferrer.

Asesoría Jurídica: Dr. Walter R. De Benedictis.

Publicación oficial de la Asociación Argentina de Hemoterapia e Inmunoematología

La Revista Argentina de Transfusión se distribuye gratuitamente a los Miembros de la AAHI.

Imprimió: Artes Gráficas Andi



Editorial

Historia de la educación médica

Profesor Emérito Dr. Buzzi, Alfredo*

La educación médica ha constituido a través de la historia, tanto un motivo de preocupación para los profesionales concientes de sus deberes como una de las aspiraciones de superación y perfeccionamiento de todos aquellos, profesores, docentes y auxiliares, relacionados con ella.

No disponemos de una información precisa sobre los métodos de enseñanza de la medicina en los pueblos cultos más antiguos, como los egipcios y asirio-babilónicos. En ellos, el médico tenía un carácter predominantemente sacerdotal-religioso, y el aprendizaje de la medicina se realizaba con toda probabilidad, a través del contacto y experiencia directa entre generaciones sucesivas. Los médicos-sacerdotes de mayor edad enseñaban a los más jóvenes los conocimientos, ritos y técnicas que constituían el arte de curar.

Es en Grecia donde por primera vez en la historia, la medicina se independiza por completo de la religión y se consideran los procesos morbosos como fenómenos naturales. Siguiendo a Hipócrates y su escuela, la medicina adopta a la observación y la experiencia como sus métodos para la exploración y el juicio clínico, incluyendo el pronóstico. Los escritos hipocráticos resumen los conocimientos, la técnica y la ética médica, que durante siglos sirvieron de guía a los miembros de nuestra profesión, por lo acertado de sus observaciones y el elevado contenido moral de sus conceptos. En el juramento médico de Cos, uno de los más memorables y honrosos documentos en la historia de la humanidad, encontramos algunos párrafos que nos sugieren que la enseñanza de la medicina se transmitía, con carácter familiar, de padres a hijos, y que el aprendiz de médico estaba bajo una especie de adopción en la familia del médico-tutor. Baste citar como prueba los siguientes párrafos del juramento:

"...A aquel que me enseñare este arte, lo apreciaré tanto como a mis padres, compartiré con él lo que posea y le ayudaré en caso de necesidad. A sus hijos los tendré por hermanos míos, y si desean aprender este arte, los iniciaré e instruiré en el mismo, sin percibir por ello retribución ni obligarles con ningún compromiso..."

También se desprende de este párrafo que, en ocasiones, se reclamaban retribuciones o compromisos a los que se les brindaba enseñanza médica.

Podemos deducir, por lo tanto, que en la Grecia Clásica la educación médica no estaba organizada ni reglamentada, siendo sobre todo privada y sobre una base contractual. No había, desde luego, ningún tipo de control del nivel educativo, y el alumno solamente tomaba el juramento correspondiente al finalizar su preparación práctica.

*Decano de la Facultad de Medicina - Universidad Nacional de Buenos Aires.

El primer centro educacional en la antigüedad que puede recibir el nombre de Universidad fue en Alejandría, ciudad fundada por el gran Macedonio, y que bajo la dinastía de los Ptolomeos prolongó y difundió la cultura griega en Oriente. Aunque sólo contamos con evidencias indirectas sobre la educación médica alejandrina, sabemos que la enseñanza de la anatomía se realizaba, por primera vez en la antigüedad, sobre cadáveres humanos. En su Universidad, que contaba con una de las más completas bibliotecas médicas de la época, enseñaron dos hombres ya famosos en la historia de la medicina: Herófilo, considerado como el fundador de la anatomía y clínico destacado (fue el primero en medir con precisión la frecuencia del pulso), y Erasítrato, fisiólogo y anatomopatólogo precursor (notó que en los casos de ascitis, el hígado se presenta "duro como una piedra").

Era tan grande la fama de Alejandría en ese tiempo, que cuando Galeno deseó estudiar la osteología humana debió dirigirse allí, ya que era el único lugar donde podía encontrarse un esqueleto completo.

En los pueblos del Extremo Oriente, como China y Japón, la enseñanza de la medicina seguía cánones tan rígidos como los que reglamentaban su ejercicio. Un Colegio de Médicos, cuyos integrantes dependían del Emperador estaba a cargo de las tareas educativas. Más tarde, durante la dinastía de los Ming, se establecieron normas muy estrictas y complejas para los exámenes médicos.

En Roma, la medicina no fue considerada en un principio como una profesión digna, y era ejercida por esclavos. Los primeros médicos con cierta preparación teórica y formación práctica como para tratar eficazmente las distintas afecciones, fueron de origen griego. Es de suponer que en este grupo también existieron embaucadores y charlatanes, que favorecieron el descrédito profesional. Hubo quienes, como Catón, llegaron a sospechar primero y repudiar después la entrada y aceptación de médicos griegos en la sociedad romana, creyendo que los guiaban propósitos ocultos de destrucción de sus ciudadanos. Durante los tiempos de la República, la educación médica seguía, en lineamientos generales a la de Grecia, es decir, con carácter privado y sin ningún tipo de vigilancia o reglamentación estatal. Más aún, se consideraba que todo ciudadano romano culto debía tener conocimientos de medicina, y es así que Aurelio Cornelio Celso, patricio romano que no era médico de profesión escribió un tratado de medicina ("Los Ocho Libros de la Medicina"), que es uno de los más valiosos de la antigüedad, ya que a través de sus páginas hemos podido informarnos a cerca de una serie de autores y procedimientos que de otra manera se hubieran perdido irremediablemente para la historia de la medicina.

El estudio y la práctica de la medicina se prestigiaron cuando Julio César concedió la ciudadanía romana a los médicos que acreditaran su condición de tales. En el siglo III, los estudios médicos ya estaban reglamentados oficialmente y consistían en anatomía (no humana sino simiana), botánica y rudimentos de patología externa. Esta última tenía importancia ya que las heridas de guerra y los combates entre gladiadores, comprendían una buena parte del material de enfermos. Existen pruebas de que también se dispensaba una enseñanza clínica a la cabecera del enfermo, a juzgar por el epigrama de Marcial que satiriza al médico Simmaco:

"Te he llamado, Dr. Simmaco, por una leve indisposición. Trajiste contigo tus cien estudiantes como corresponde a un real clínico.

"Con las manos heladas por los vientos invernales practicaron su palpación.

"La fiebre que no tenía es ahora una conflagración."

Como vemos, las quejas actuales de nuestros enfermos internados en los servicios hospitalarios donde se enseñan las bases del examen físico y de la semiología, tienen antecedentes milenarios.

Después de Galeno, la medicina científica se estancó en Occidente. Su enseñanza se mantuvo en los cánones ya establecidos. Bajo la influencia del cristianismo se exaltan los valores espirituales y se aspira a la perfección moral con miras a la vida eterna, despreciándose los bienes materiales. El estudio de la estructura y funciones del cuerpo humano, fundamental para el progreso y la enseñanza de la medicina, pasa a segundo lugar. La enfermedad es considerada como un castigo divino por haber caído en el pecado o como una prueba para la salvación del alma. Las enseñanzas de Hipócrates, con su énfasis sobre la observación y la experiencia con base para el avance de la medicina, caen en el olvido en

Occidente. Se mantienen, sin embargo, en Bizancio, capital del Imperio Romano de Oriente, y de allí se transmiten gracias a la intransigencia religiosa imperante, hasta la Mesopotamia y Persia, por la migración forzada de un grupo de eruditos.

En efecto, Nestorio, que había sido obispo de Bizancio, llegó a afirmar que la Virgen María no era la Madre de Dios sino la Madre de Cristo. Esta diferencia de opinión se consideró como una gran herejía, y el patriarca Nestorio y sus seguidores fueron expulsados al desierto. Los nestorianos, que poseían importantes conocimientos de medicina grecorromana, pudieron controlar la escuela de Medicina de Edesa, en la Mesopotamia, que contaba con dos hospitales. Los nestorianos fueron nuevamente expulsados por el obispo ortodoxo Ciro en el año 489, y se dirigieron a Persia, donde fundaron la famosa escuela médica de Gondischapur, la que constituyó el núcleo inicial de la medicina musulmana.

Entre los árabes, la medicina alcanzó rápidos progresos, sobre todo si se la compara con la que se practicaba en Europa por la misma época. Aún limitándonos a la educación médica, no podemos dejar de mencionar a Rhazes y Avicena, a quienes vemos representados dando clase ante un grupo de alumnos. Avicena, sobre todo, escribió un tratado de medicina (el "Canon") que se empleó como libro de texto en las universidades europeas aun hasta el siglo XVII, y que en la actualidad todavía es consultado por las familias musulmanas como libro médico "casero".

El famoso califa Harun-al-Raschid fundó un hospital en Bagdad durante el siglo IX, el que fue completado con otro mayor, donde se brindaba enseñanza médica, incluyendo el examen de los candidatos y la certificación de su habilidad mediante diplomas. Los hospitales contaban con excelentes bibliotecas y algunas llegaron a tener varios centenares de miles de volúmenes, lo que constituye una cifra colosal para esa época en la que los libros eran manuscritos.

Aún cuando las contribuciones originales de la medicina árabe no pueden desestimarse, es indudable que su mayor aporte fue conservar los preceptos y enseñanzas de la medicina grecorromana. Durante ese período, la enseñanza y la práctica de la medicina en el mundo cristiano tenían un carácter netamente clerical.

La gran influencia cristiana en el mundo occidental, determinó que la asistencia médica se brindara especialmente en monasterios, y que incluyera consuelos espirituales y materiales. El primer centro de educación médica durante el Medioevo fue la Escuela de Salerno, a la que podemos considerar con justicia la primera Facultad de Medicina del mundo, una verdadera "Civitas Hippocratica". Además en la enseñanza de la medicina y cirugía, la Escuela de Salerno contaba con hospitales, hermanas de caridad y farmacéuticos. Durante los siglos XI y XII, la educación médica consistía en un curso preliminar de tres años y un curso médico-quirúrgico propiamente dicho de cinco años de duración. Si bien en un comienzo eran los monjes los que dictaban la enseñanza, ésta pasó ulteriormente a manos de profesores laicos de ambos sexos, los que debían ajustarse a reglas muy estrictas, siempre de acuerdo con los preceptos y bajo la autoridad de Hipócrates y Galeno.

Durante la Edad Media comienzan a fundarse en Europa las universidades, y su control y dirección pasan paulatinamente de manos de los religiosos a los laicos. Se iniciaron con reuniones de grupo de jóvenes deseosos de aprender al lado de algún erudito. Si recordamos que el término "Universidad" significa literalmente una asociación, comprenderemos su origen, relacionado precisamente con la unión de grupos de estudiantes junto a un erudito o profesor. Algunas universidades comenzaron como centros de estudios teológicos y filosóficos, como la de París, o de derecho, como la de Bologna. Esta última también tuvo un papel decisivo en las enseñanzas de la medicina, junto a la de Montpellier, y específicamente en relación con la anatomía. En efecto, fue en Bologna donde comenzaron a practicarse con cierta regularidad disecciones de cadáveres humanos, casi siempre de criminales ajusticiados, bajo la influencia de los maestros Taddeo Alderotti y sobre todo de Mondino de Luzzi. Este último, escribió un texto de anatomía en 1316, que fue de consulta obligada hasta la aparición de la "Fabrica de Vesalio", en 1543.

A pesar de todo, la mayor parte de los estudios médicos medievales eran eminentemente teóricos. En Oxford, por ejemplo, existían tres grados o títulos: el de bachiller, licenciado y doctor. Los libros de texto empleados eran de Galeno, Hipócrates y autores salernitanos. El curso de medicina duraba entre seis y ocho años.

La Universidad de Pavia contaba, en el año 1433, con veinte profesores, los que daban clases matinales y nocturnas sobre los siguientes temas: medicina práctica, física, metafísica, lógica, astrología, cirugía y retórica. Los sueldos que se pagaban a los docentes no eran adecuados, de modo que la mayoría ejercía además la medicina en forma privada. Los autores árabes, especialmente Rhazes y Avicena, seguían manteniendo una gran influencia, su lectura y consulta eran obligadas. Una de las limitaciones de las universidades europeas durante la Edad Media, residía en la escasez de libros de texto de medicina. Baste consignar que la de París, en el año 1395, contaba con sólo trece libros.

El examen de graduación solía consistir en un comentario sobre los aforismos de Hipócrates, y en la descripción de alguna enfermedad. En muchos casos el candidato debía comprometerse bajo juramento a no usar el bisturí ni el cauterio.

Un hecho decisivo en la facilitación y difusión de la educación médica, fue la invención de la imprenta. Hacia fines del siglo XV, se imprimieron una serie de textos de medicina, entre los que podemos nombrar el "Fasciculus Medicinæ" de Juan de Kethan, Venecia, 1495; la "Articoll" de Galeno, Venecia 1479 y 1483; y el "Regimen Sanitatis Salernitanum", París, 1493.

El Renacimiento marca la iniciación de una época relevante en la historia de la educación médica, caracterizada por el retorno al estudio objetivo y práctico de la anatomía humana, la decadencia progresiva del galenismo y de la influencia árabe, y la libertad para enseñar, aprender e investigar. Fueron las universidades del norte de Italia, y especialmente Padua y Bologna, en donde más se progresó en la enseñanza de la medicina, tanto por la celebridad como por la eficiencia de los profesores que allí dictaron, como Vesalio, Casalpino, Fallopio, Fabricio, Berengario de Carpi y otros.

A las universidades italianas acudían estudiantes de todas partes del mundo, los que se asociaban de acuerdo a sus nacionalidades, con estatutos propios. Encontraban allí una libertad religiosa y académica muy completa, lo que era bastante raro en ese entonces. Entre los alumnos extranjeros más conocidos recordaremos a Juan Caius, Guillermo Harvey y Nicolás Copérnico. Los profesores de medicina de las universidades italianas fueron recibiendo progresivamente mejores retribuciones económicas durante el Renacimiento, sobre todo si se las compara con las de otras universidades extranjeras.

En esa época, la anatomía comienza a enseñarse en forma práctica y objetiva, mediante disecciones públicas. Se desechan los esquemas galénicos, muchos de ellos basados en la anatomía animal, insistiéndose en la observación cuidadosa de los cadáveres humanos como método seguro de aprendizaje e investigación. Se construyen los primeros anfiteatros anatómicos, primero en Bologna y luego en Padua, este último a instancias y expensas de su profesor de anatomía, Fabricio de Aquependente.

Durante el siglo XXVII, comienza a decaer la importancia de las universidades italianas, iniciándose el crecimiento de las de Holanda, Inglaterra y Alemania, tales como Harderwijk, Giessen, Utrecht, Kiel, Halle, Oxford y Cambridge. Como grandes centros de educación médica podemos citar a Leyden, donde enseñaron Sylvius, Ruysch, y Bidloo; La Haya, con van Deventer y Solingen; París con Vieussens, Pierre Donis, Mauriceau y Duverney.

En el siglo XVIII, los avances de la educación médica se hicieron especialmente en la anatomía, medicina clínica y cirugía. Desde mediados de esta centuria, se organiza la instrucción clínica en Viena, gracias a van Swieten y en París, por Desbois de Rochefort. En Inglaterra, la educación médica se desarrolló bajo el sistema de hospital-escuela en instituciones como el Hospital de Guy, de Edimburgo, de Meath y de Londres. Aún cuando el plan de enseñanza incluía regularmente un programa de estudios ordenado, el número de profesores de cada facultad era a menudo exiguo, y cada uno de ellos solía dictar y enseñar más de una materia. Así, era corriente que el mismo catedrático enseñara simultáneamente la anatomía, cirugía y obstetricia.

Durante la primera mitad del siglo XIX, la educación médica se orienta definitivamente hacia el sendero científico, siguiendo los dictados de la filosofía positivista y del método experimental. En Francia, especialmente, la enseñanza de la medicina y cirugía alcanza un alto grado de perfección en manos de Corvisart y Laennec, Desault, Bichat y Dupuytren. Asistimos en esta época a la aplicación clínica de la percusión y de la auscultación y del método anatomoclínico, iniciado por Morgani y desarrollado por Laennec. Los alumnos participaban en el aprendizaje de los métodos del examen físico a la cabecera del enfermo, y observaban los resultados de la necropsia.

Al pasar a la segunda mitad del siglo XIX, el cetro de la medicina científica comienza a desplazarse de Francia hacia Alemania y Austria. En estos países, las escuelas de medicina disponían de laboratorios magníficamente equipados y de distintos departamentos de especialidades médico-quirúrgicas integrados en el hospital universitario. Este es el período de apogeo de la anatomía patológica en manos de Rokitsansky, Virchow y Conheim, y de la bacteriología gracias a Pasteur, Koch y otros. La bioquímica y la biofísica comienzan a ser materias básicas obligadas en los estudios médicos.

Hacia fines del siglo XIX, la educación médica había alcanzado un alto nivel científico, especialmente en Europa. Los progresos que se han logrado desde esa época hasta la actualidad han dependido particularmente de la aplicación de nuevos métodos didácticos, de una rigurosa selección de los alumnos aspirantes para el ingreso, y la prolongación de la enseñanza hasta el nivel de postgraduados, en base a cursos de perfeccionamiento y especialización, pero sobre todo gracias al sistema de residencias hospitalarias, que como sistema educativo médico-asistencial ha brindado resultados excelentes, y al que hemos dedicado unas notas históricas.

Estos progresos de la educación médica pudieron desarrollarse especialmente en Norteamérica, en parte como reacción ante la proliferación excesiva de las Facultades de Medicina, sin un nivel adecuado de preparación para sus alumnos. En 1871, el Presidente de la Universidad de Harvard, Charles W. Eliot, elevó los requerimientos para el ingreso en la Escuela de Medicina, alargando el curso a tres años. En 1880, se inauguró la Escuela de Medicina Johns Hopkins, organizada por Daniel C. Gilman, John S. Billings, Henry Newell Martin y William H. Welch. Eran sus profesores Welch (patología), William S. Halsted (cirugía), William Osler (medicina) y Howard Kelly (ginecología), los que después fueron llamados los “cuatro grandes del John Hopkins”. Estos grandes médicos pusieron en práctica las recomendaciones que Billings había hecho para la asistencia y enseñanza que brindaría el Hospital John Hopkins, a saber: el cuidado de los enfermos pobres, comodidades para los pacientes privados con medios económicos, una educación apropiada para médicos y enfermeras, y la promoción de los descubrimientos en la ciencia y arte de la medicina, y su difusión para el bien público. Billings insistió en que la enseñanza fuera práctica, y realizada en las salas de internación y consultorios externos del hospital, y no en el aula, como era corriente entonces.

La escuela de medicina Johns Hopkins pasó a ser una de las más famosas en Norteamérica. Los requerimientos para el ingreso eran muy estrictos, en grado tal, como para que el Dr. Osler comentara irónicamente a uno de sus colegas profesores: “Es una suerte que hayamos podido entrar aquí como profesores, ya que seguramente habríamos fallado si lo hubiéramos intentado como alumnos”.

Los alumnos servían como ayudantes en los servicios de medicina y cirugía, y los laboratorios trabajaban íntimamente conectados con las salas de clínica. De esta manera, los estudiantes participaban real y activamente en el trabajo hospitalario, tanto en el laboratorio como en el consultorio externo y salas de autopsia. El Hospital y Escuela de Medicina Johns Hopkins sirvieron de ejemplo y emulación al resto de las universidades norteamericanas, las que fueron elevando progresivamente su nivel de educación médica teórica y práctica.

Uno de los jalones en la historia de la educación médica lo constituye el estudio y posterior informe que realizó Abraham Flexner sobre el estado y nivel científico de las Facultades de Medicina norteamericanas y europeas, patrocinado por la Fundación Carnegie para el progreso de la enseñanza. Los resultados de esta investigación demostraron que una gran proporción de las Escuelas de Medicina no reunían los requerimientos básicos indispensables para poder ofrecer una enseñanza adecuada. Ello significó una reducción drástica en el número de las mismas; en Nueva York, por ejemplo, pasó de cuarenta y tres a once. Posteriormente, el estudio de Flexner fue continuado por el Consejo de Educación Médica de la Asociación Médica Norteamericana.

Uno de los médicos que mayor influencia tuvieron en elevar el nivel de la enseñanza de la medicina fue el Dr. William Osler, que ocupó los cargos de Profesor de Medicina sucesivamente en las Universidades de MacGill, Pansylvania, Johns Hopkins y Oxford. Sus altos ideales, su extensa y profunda cultura médica, sus sanos y sabios consejos al estudiante de medicina, su amor por los aspectos más cultos y humanos de nuestra profesión, hacen de su personalidad una de las más brillantes y atractivas para el

que se dedica a revisar el pasado de la educación médica. Sus escritos pueden consultarse con utilidad y deleite en la actualidad. Por eso hemos pensado citar como adecuado epílogo a estas notas históricas, una de sus reflexiones sobre la educación médica:

“La función del maestro es enseñar y propagar lo mejor de los conocimientos que existen, enseñar el conocimiento actual de la materia que profesa, analizando, integrando y estableciendo principios. Debe propagar y multiplicar los hechos sobre los que se basan los principios, experimentando, investigando, probando. Nada menos puede satisfacer a un profesor digno de tal nombre, que lo mejor que se conoce y enseñan en el mundo, y sobre nosotros, pertenecientes a las Facultades Médicas, existe un deber ligado a este respecto, desde que nuestro Arte, coordinado con el sufrimiento humano, es cosmopolita”.

“Existen dos aspectos en los que podemos visualizar al profesor, como un trabajador e instructor científico, y como práctico y profesor del arte; y éstos corresponden a la división natural de la Facultad en la Escuela de Medicina propiamente dicha y el Hospital.”

Profesor Emérito Dr. Buzzi, Alfredo



Caracterización de los antígenos específicos del neutrófilo NA1, NA2 y SH en la población argentina

De La Vega Elena, Carlos Daniel^{*,****}; Nogués, Nuria^{****};
Fernández Montoya, Antonio^{****}; Oyonarte, Salvador^{****};
Solís, Edita^{*}; Muñiz-Díaz, Eduardo^{****}

Resumen

Los antígenos específicos de neutrófilos NA1 (HNA-1a), NA2 (HNA-1b) y SH (HNA-1c) son formas alotípicas del FcγRIIIb y los blancos más frecuentes de los aloanticuerpos antigranulocitarios. El objetivo de este estudio fue determinar las frecuencias alélicas de los antígenos específicos de neutrófilos pertenecientes al sistema HNA-1 en donantes de sangre y amerindios de la etnia Toba de la ciudad de Rosario, Argentina. Se genotipificaron doscientos dieciocho individuos no relacionados para HNA-1a, HNA-1b y HNA-1c mediante reacción en cadena de polimerasa con cebadores secuencia específica (PCR-SSP). Las frecuencias alélicas en los donantes de sangre para HNA-1a y HNA-1b fueron 0,44 y 0,56 respectivamente y en la población amerindia Toba fueron 0,77 y 0,23 respectivamente. El alelo HNA-1c presentó una frecuencia de 0,023 en los donantes de sangre, pero no se detectó en ninguno de los individuos amerindios estudiados. Los presentes datos mostraron que las frecuencias de los alelos que codifican al sistema HNA-1 en la población mayoritaria de Rosario y en la minoritaria amerindia Toba son similares a las descritas en europeos y otras poblaciones amerindias distantes, respectivamente.

Palabras Clave: Frecuencias alélicas - HNA - Población Argentina

Summary

The neutrophil-specific antigens NA1 (HNA-1a), NA2 (HNA-1b) and SH (HNA-1c) are allotypic forms of FcγRIIIb and the most frequent targets of neutrophil alloantibodies. The aim of this study was to determine the gene frequencies of the neutrophil-specific antigens belonging to the HNA-1 system in blood donors and Toba Amerindians from Rosario, Argentina. Two hundred and eighteen unrelated individual from Rosario were typed for HNA-1a, HNA-1b and HNA-1c, using polymerase chain reaction with sequence-specific primers (PCR-SSP). For the Argentinean blood donors, the HNA-1a and HNA-1b gene frequencies were 0.44 and 0.56 and for the Amerindians Toba were 0.77 and 0.23 respectively. The HNA-1c gene frequency in blood donors was 0.023 but the allele was absent within the Amerindian individuals.

The present data showed that the HNA-1 allele frequencies in the major population and the Toba Amerindians from Rosario are similar to those described in European and others distant Amerindians populations, respectively.

Key words: Alelic frecuencias - HNA - Argentine population

*Servicio de Hematología y Medicina Transfusional. Hospital Italiano Garibaldi. Rosario, Argentina. daniel.delavega@yahoo.com

**Instituto Universitario Italiano de Rosario (I.U.N.I.R.). Rosario, Argentina.

***Departamento de Bioquímica Clínica. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. Universidad Nacional del Litoral (U.N.L.). Santa Fe, Argentina.

****Banc de Sang i Teixits. Barcelona, España.

*****Centro Regional de Transfusión Sanguínea de Granada-Almería. Granada, España.

Introducción

Los aloantígenos de neutrófilos humanos (HNA) son polimorfismos en las glicoproteínas (GPs) de la membrana granulocitaria, capaces de generar una respuesta inmune en individuos susceptibles al ser expuestos durante el embarazo, la transfusión sanguínea o el trasplante.

Los antígenos HNA-1a (NA1), HNA-1b (NA2) y HNA-1c (SH) se localizan en el receptor FcγRIIIb (CD16)¹⁻⁴ que se expresa únicamente en los neutrófilos. Estos antígenos son los blancos más frecuente de los anticuerpos antigranulocitarios. La aloinmunización contra estos polimorfismos puede resultar en neutropenia aloinmune neonatal (NAN), lesión pulmonar aguda por transfusión (TRALI) y en reacciones febriles no hemolíticas, mientras que los autoanticuerpos contra el FcγRIIIb están asociados muy frecuentemente a la neutropenia autoinmune (NAI).

El FcγRIIIb¹⁻⁴ es una glicoproteína con 233 aminoácidos anclada a la membrana a través de un grupo fosfatidil-insositol (GPI). El FcγRIIIb y los antígenos que porta son codificados por el gen FCGR3B localizado en el cromosoma 1q23-24 en un *cluster* de dos familias de genes FcγR: FCGR2 y FCGR3. La familia FCGR3 está constituida por FCGR3A y FCGR3B. El gen FCGR3B es altamente homólogo al FCGR3A, que codifica al receptor FcγRIIIa. La diferencia más importante entre ambos genes es un cambio de una C por una T en el nucleótido 733 del FCGR3B que crea un codón stop en el FcγRIIIb. Como resultado, FcγRIIIa tiene 21 aminoácidos más que FcγRIIIb y esto hace que el FcγRIIIa codifique para una glicoproteína transmembranal en lugar de una anclada por GPI.

La variante FcγRIIIb_{HNA-1b} (que porta al antígeno HNA-1b) presenta dos sitios adicionales de glicosilación con respecto a la variante FcγRIIIb_{HNA-1a} (que porta al antígeno HNA-1a) en las posiciones 65 y 82.²

A nivel del ADN, el alelo FCGR3B_{HNA-1a} (FCGR3B*1) difiere del FCGR3B_{HNA-1b} (FCGR3B*2), en sólo cinco nucleótidos, en las posiciones 141, 147, 227, 277 y 349.¹⁻⁴ Cuatro de los cambios nucleotídicos resultan en cambios de aminoácidos entre los antígenos HNA-1a y HNA-1b. El quinto polimorfismo en la posición 147 es silencioso.

La secuencia nucleotídica del alelo FCGR3B_{HNA-1c} (FCGR3B*3) que codifica para la forma del FcγRIIIb que porta el antígeno HNA-1c es idéntico al del FCGR3B_{HNA-1b} excepto por la sustitución de una adenina por una citosina en la posición 266 (Figura 1). Esta sustitución de nucleótido resulta en un cambio de una alanina por una ácido aspártico en el residuo 78 del FcγRIIIb.⁵

La duplicación génica parece ser la causa de los tres genes FCGR3B encontrados en muchos individuos HNA-1c(+) en lugar de dos.⁶ Normalmente hay entre 100.000 y 200.000 copias del FcγRIIIb por neutrófilo⁴ pero los individuos con tres copias del gen FCGR3B expresan mayores cantidades del receptor en su superficie.

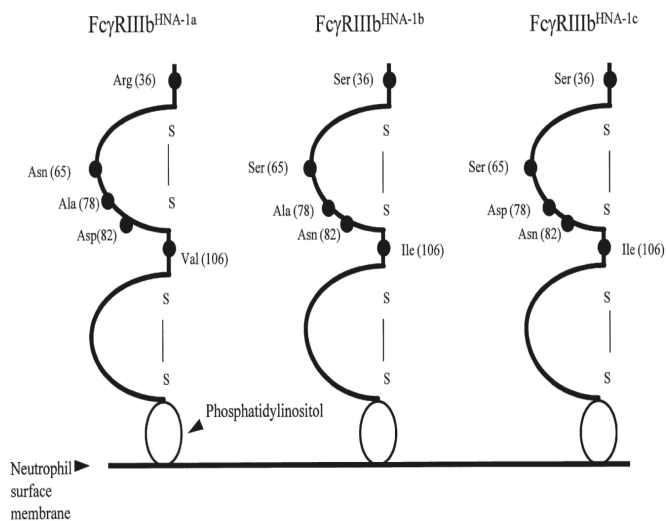


Figura 1. Representación esquemática de la sustitución de aminoácidos que resultan en las formas HNA-1a, -1b y -1c del FcγRIIIb. Reproducido con autorización del Dr. Paul Metcalfe.

La inmunotipificación de los antígenos granulocitarios (serología) ha sido reemplazada progresivamente por la genotipificación para aquellos antígenos HNA cuyas bases moleculares son conocidas. Ésta se realiza con ADN genómico obtenido de cualquier material celular, utilizando reactivos disponibles comercialmente.

Numerosas técnicas basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se han aplicado a la caracterización de los tres alelos del sistema HNA-1, aunque la variante cebador-secuencia-específica (PCR-SSP), empleada en el presente trabajo es, por su simpleza y bajo costo, la más utilizada en la práctica clínica y en estudios poblacionales.⁷

Las frecuencias de los tres alelos que codifican a los antígenos que conforman el sistema HNA-1, varían ampliamente en las poblaciones caracterizadas hasta la fecha (Tabla 1). Entre los caucásicos, la frecuencia del alelo FCGR3B_{HNA-1a} (FCGR3B*1) varía entre 0,30 y 0,37 y la frecuencia para el alelo FCGR3B_{HNA-1b} (FCGR3B*2) varía entre 0,63 a 0,70. Contrariamente, en poblaciones japonesas, chinas y amerindias, la frecuencia alélica de FCGR3B_{HNA-1a} es de 0,60 a 0,76 y para FCGR3B_{HNA-1b} de 0,30 a 0,20. La frecuencia alélica de FCGR3B_{HNA-1c} es de 0,02 a 0,03 en caucásicos, de 0,12 a 0,19 en poblaciones afroamericanas y mucho menor en amerindios.

Rosario, la ciudad de acogida de ambas poblaciones caracterizadas en el presente trabajo, está situada en el centro-este de Argentina y junto a otras localidades forma el área metropolitana del Gran Rosario, la tercera aglomeración del país. De manera similar al resto de la Argentina, una gran parte de sus 1.120.000 habitantes son descendientes de inmigrantes de origen italiano y español. Desde hace unos pocos años la ciudad ha sumado un importante flujo de migración proveniente del noreste del país (principalmente de la provincia de Chaco) entre quienes encontramos al gru-

Tabla 1. Frecuencias alélicas FCGR3B en varias poblaciones				
Población	n	FCGR3B*1	FCGR3B*2	FCGR3B*3
Italianos	200	0.282	0.692	SD
Españoles	345	0.290	0.710	0.011
Tunecinos	98	0.311	0.668	SD
Berebere	101	0.342	0.658	SD
Daneses	200	0.365	0.635	0.030
Caucásicos USA	90	0.367	0.633	0.022
Alemanes	260	0.373	0.627	0.025
Ugandeses	43	0.395	0.558	0.174
Argentinos (Rosario)	192	0.443	0.557	0.023
Amerindios USA	171	0.551	0.449	0,005
Chinos	413	0.565	0.430	0.000
Brasileña	85	0.58	0.42	0.053
Japoneses	400	0.622	0.378	0.000
Amerindios Tobas (Rosario)	26	0.769	0.231	0.000
Amerindios (Xikrin- Kayapo Indians)	92	0.670	0.210	0,000
Kayapo	16	0.75	0.25	0.00
Wayampi	11	0.83	0.18	0.00
Arara	4	0.88	0.12	0.00
Wayana-Apalai	10	0.90	0.10	0.00
Yanomama	9	0.94	0.06	0.00
Awá-Guajá	10	0.95	0.05	0.00
*Este trabajo. n=individuos caracterizados. SD: Sin describir				

po amerindio originario Toba. A pesar de lo reducido de este grupo, su alta endogamia, justifica su caracterización como una medida de la heterogeneidad genética de los habitantes de la ciudad de Rosario.

Objetivos

Los objetivos de este trabajo fueron estimar, en la población mayoritaria y en el grupo minoritario aborigen Toba de la ciudad de Rosario, Argentina, las frecuencias de los aloantígenos específicos de granulocitos NA1, NA2 y SH (sistema HNA-1) y compararlas entre sí y con otras poblaciones estudiadas.

Materiales y métodos

Se reclutaron 192 individuos pertenecientes a la población mayoritaria (149 donantes de sangre y 43 profesionales y administrativos del Hospital Italiano Garibaldi) y 26 individuos pertenecientes a la etnia Toba. Todos los individuos refirieron no estar relacionados entre sí, vivir en la ciudad de Rosario y gozar de buena salud al momento del estudio. Todos los individuos del grupo amerindio Toba habían nacido en la Provincia de Chaco, habitaban al momento del estudio los barrios "Los Pumitas" y "la Travesía" de la ciudad de Rosario y referían tener a sus cuatro abuelos Tobas y hablar la lengua Toba.

En concordancia con los datos censales⁸, la población general de rosario refirió ancestros provenientes de Italia y España y sólo 2 de los 192 individuos (1%) incluidos en el estudio refirieron tener un pariente cosanguíneo aborigen.

En todos los casos, la muestra de sangre entera anticoagulada con EDTA fue obtenida luego de la entrevista explicativa de los estudios a realizar y la obtención del consentimiento informado. Para preservar el anonimato de los individuos estudiados las muestras fueron codificadas.

Para la amplificación de los alelos HNA-1a, HNA-1b y HNA-1c se utilizó la técnica de PCR-SSP descrita por Bux et al^{5,9} con ligeras modificaciones.

Por las particularidades descritas en el sistema HNA-1, las frecuencias alélicas fueron calculadas usando la fórmula de Steffensen *et al.*¹⁰

La significación estadística del ajuste al equilibrio de Hardy-Weinberg y las diferencias en la distribución de las frecuencias genotípicas del sistema HNA-1 entre las distintas poblaciones se calculó con el test χ^2 (Chi-cuadrado) de Pearson. Se realizó el análisis del componente principal para las frecuencias de los tres alelos del sistema HNA y se graficaron los dos primeros componentes, para obtener una imagen en dos dimensiones (similar a los dendrogramas) de un espacio pluridimensional. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante el paquete STATA versión 9,1 (*College Station, Texas, EUA.*).

Resultados

El sistema HNA-1 en ambas poblaciones estudiadas tuvo un buen ajuste a la ley de Hardy-Weinberg (Tabla 2).

En la población mayoritaria de Rosario, la frecuencia del alelo HNA-1a es menor que la del alelo HNA-1b. El caso opuesto se observa en el grupo amerindio Toba (Tabla 3). Las diferencias entre ambas poblaciones fueron estadísticamente significativas (Tabla 2).

La frecuencia de los alelos HNA-1a y HNA-1b en la población mayoritaria (0,44 y 0,56 respectivamente) fueron diferentes ($p < 0,001$) de las observadas en poblaciones italianas (0,282 y 0,692) y españolas (0,290 y 0,710)^{11,12}, pero similares a las descritas en otras poblaciones caucásicas como las danesas (0,365 y 0,635), norteamérica (0,367 y 0,633) y alemana (0,373 y 0,627)^{10,13,14}.

En el grupo amerindio Toba, las frecuencias de los alelos HNA-1a y HNA-1b (0,77 y 0,23 respectivamente) fueron similares a las reportadas en Japoneses (0,622 y 0,378) y otras poblaciones amerindias emplazadas en áreas geográficamente alejadas.¹⁵⁻¹⁷

El alelo HNA-1c estuvo presente en el 4,7% de los individuos de la población mayoritaria pero en ninguno de los individuos amerindios estudiados, en concordancia con estudios publicados anteriormente.

El análisis del componente principal (Figura 2) muestra a través de las distancias, muy fidedignamente la

variabilidad HNA-1 entre las poblaciones descritas en la Tabla 1 (99,7% cuando se grafican los primeros dos componentes). En este gráfico se repite la observación previa: La cercanía de la población mayoritaria de la ciudad de Rosario al "cluster" o "bloque de ascendencia europeo" constituido por las poblaciones alemana, danesa, norteamericana y algo alejada de las poblaciones italiana y española.

Conclusiones

Las frecuencias de los antígenos HNA-1a, -1b y -1c estimadas para la población mayoritaria de la ciudad de Rosario son similares a las descritas en poblaciones europeas. Notablemente con respecto a las poblaciones que más aportaron con su inmigración como la italiana y española, la frecuencia del alelo HNA-1a es algo mayor, probablemente por influencia de grupos amerindios y africanos.¹⁸

Las frecuencias estimadas para los aborígenes Tobas son homologables a las encontradas en grupos amerindios del Amazonas y en menor grado, en poblaciones orientales.

Como era de esperar, existen diferencias significativas en la distribución de los aloantígenos de neutrófilos HNA-1a, -1b y -1c entre ambos grupos. Esta situación establece diferencias en la probabilidad de incompatibilidad a priori para los antígenos HNA-1 asociada a la transfusión y al embarazo entre ambas poblaciones. Desde el punto de vista de la seguridad transfusional y obstétrica, se debe hacer hincapié en la detección y caracterización de la aloinmunización independientemente del grupo étnico del paciente.

Los pocos casos diagnosticados de neutropenia aloinmune neonatal, sugieren que se halla subdiagnosticada en nuestro medio, al igual que el resto de los cuadros asociados a la aloinmunización HNA.

El estudio de estos polimorfismos en nuestra población es el primer paso para establecer un panel de donantes caracterizados para los antígenos HNA-1a (NA1), HNA-1b (NA2) y HNA-1c (SH), que permitirá el correcto diagnóstico serológico en gestantes y pacientes y de ser necesario, proveer neutrófilos compatibles a los pacientes sensibilizados.

Agradecimientos

Los autores agradecemos a la Antropóloga Claudia Cisneros. Esta investigación fue financiada parcialmente por la Sociedad Española de Transfusión Sanguínea (SETS). Parte del contenido del presente trabajo fue publicado en *Tissue Antigens*. 71(5):475-7 y presentado en el Panel S6 del XVII Congreso Regional de la ISBT en Madrid.

Tabla 2. Frecuencias genotípicas HNA-1 en la población mayoritaria y la población Amerindia Toba de Rosario							
	Población mayoritaria (n=192)*			Amerindios Toba (n=26)†			Test de Homogeneidad
Genotipo HNA-1	Frecuencia Observada	Frecuencia Esperada	Análisis H-W	Frecuencia Observada	Frecuencia Esperada	Análisis H-W	p
1a/1a	0.203	0.198	$\chi^2=0.161$ p=0.689	0.577	0.615	$\chi^2=0.181$ p=0.671	$\chi^2=19.6$ p<0.001
1a/1b	0.479	0.490		0.385	0.346		
1b/1b	0.318	0.312		0.038	0.038		

*Se genotificaron 192 individuos de la población mayoritaria y 26 de la población amerindia Toba

Tabla 3. Frecuencias fenotípicas y alélicas HNA-1 en las poblaciones mayoritaria de Rosario y la Amerindia Toba					
Alelo	Sinónimo	Frecuencia Fenotípica %		Frecuencia Alélica [CI 95%]	
		Población mayoritaria	Amerindios Toba	Población mayoritaria n=384*	Amerindios Toba n=52†
HNA-1a	NA1	68.2	96.2	0.443 ± [0.393-0.492]	0.769 ± [0.655-0.884]
HNA-1b	NA2	76.0	42.3	0.557 ± [0.508-0.607]	0.231 ± [0.116-0.345]
HNA-1c	SH	4.7	0.0	0.023 ± [0.008-0.038]	0.000 ± [0.000-0.056]

*Los cromosomas analizados fueron 384 en individuos de la población mayoritaria y 52 en amerindios Toba.

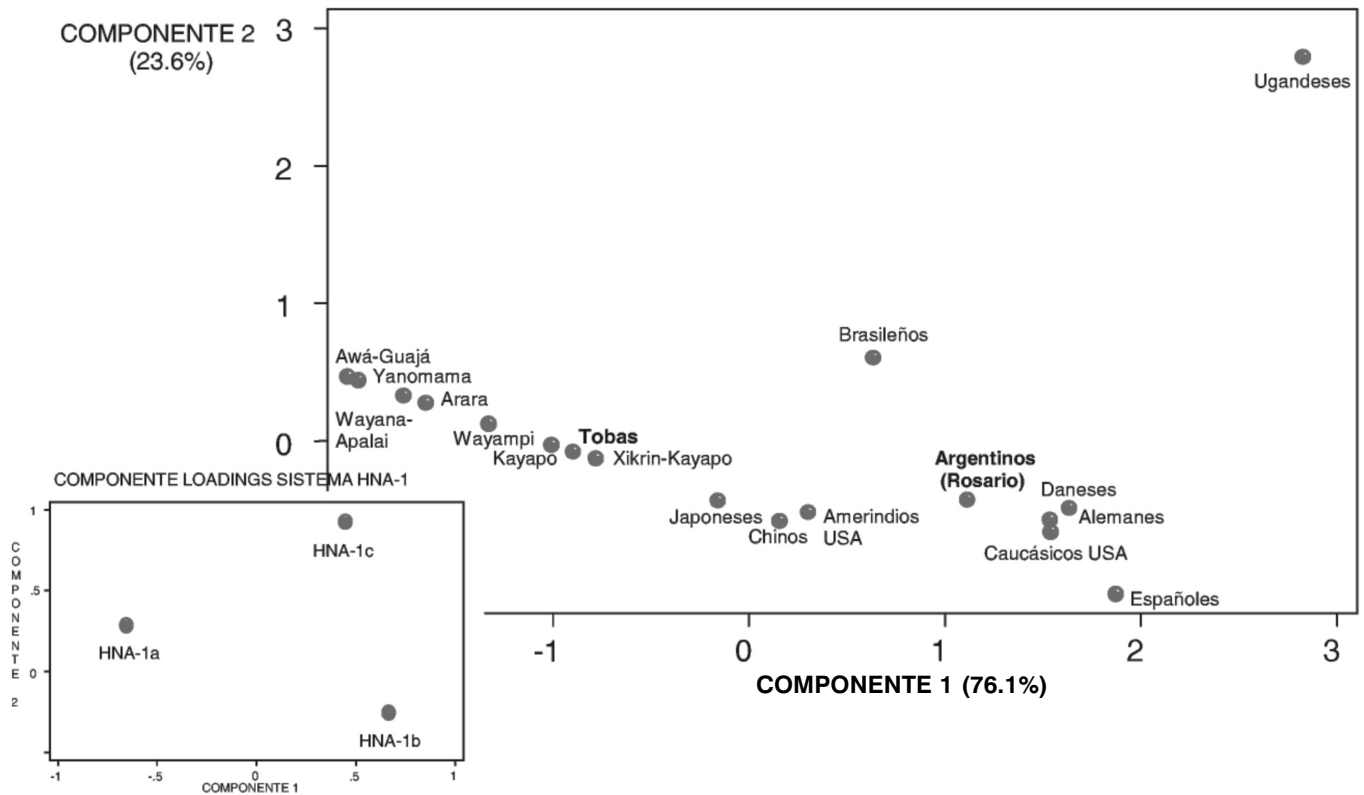


Figura 2. Frecuencias génicas HNA-1 en distintas poblaciones. Análisis del componente principal.

Referencias

1. Trounstine ML, Peltz GA, Yssel H, et al. Reactivity of cloned, expressed human Fc gamma RIII isoforms with monoclonal antibodies which distinguish cell-type-specific and allelic forms of Fc gamma RIII. *Int Immunol* 1990; 2: 303-10.
2. Ory PA, Clark MR, Kwok EE, et al. Sequences of complementary DNAs that encode the NA1 and NA2 forms of Fc receptor III on human neutrophils. *J Clin Invest* 1989; 84: 1688-91.
3. Ravetch JV, Perussia B. Alternative membrane forms of Fc gamma RIII(CD16) on human natural killer cells and neutrophils. Cell type-specific expression of two genes that differ in single nucleotide substitutions. *J Exp Med* 1989; 170: 481-97.
4. Huizinga TW, Kleijer M, Tetteroo PA, et al. Biallelic neutrophil Na-antigen system is associated with a polymorphism on the phospho-inositol-linked Fc gamma receptor III (CD16). *Blood* 1990; 75: 213-7.
5. Bux J, Stein EL, Bierling P, et al. Characterization of a new alloantigen (SH) on the human neutrophil Fc gamma receptor IIIb. *Blood* 1997; 89: 1027-34.
6. Koene HR, Kleijer M, Roos D, et al. Fc gamma RIIIB gene duplication: evidence for presence and expression of three distinct Fc gamma RIIIB genes in NA(1+,2+)SH(+) individuals. *Blood* 1998; 91: 673-9.
7. Kissel K, Hofmann C, Gittinger FS, et al. HNA-1a, HNA-1b, and HNA-1c (NA1, NA2, SH) frequencies in African and American Blacks and in Chinese. *Tissue Antigens* 2000; 56: 143-8.
8. Hernández I. "Los indios y la antropología en la Argentina". Los indios y la antropología en América Latina. Buenos Aires: Yuchán, 1984.
9. Bux J, Stein EL, Santoso S, Mueller-Eckhardt C. NA gene frequencies in the German population, determined by polymerase chain reaction with sequence-specific primers. *Transfusion* 1995; 35: 54-7.
10. Steffensen R, Gulen T, Varming K, Jersild C. FcgammaRIIIB polymorphism: evidence that NA1/NA2 and SH are located in two closely linked loci and that the SH allele is linked to the NA1 allele in the Danish population. *Transfusion* 1999; 39: 593-8.
11. Bontadini A, Tazzari PL, Manfroi S, et al. Human-platelet-antigen and neutrophil-antigen gene frequency in the Italian population determined by polymerase chain reaction with sequence specific primers. *Haematologica* 2000; 85: 430-1.
12. Torio A, Marin L, Muro M, et al. Determination of NA gene frequencies in the Spanish population by polymerase chain reaction with sequence-specific primers. *Eur J Immunogenet* 1998; 25: 393-4.
13. Hessner MJ, Curtis BR, Edean DJ, Aster RH. Determination of neutrophil antigen gene frequencies in five ethnic groups by polymerase chain reaction with sequence-specific primers. *Transfusion* 1996; 36: 895-9.
14. Flesch BK, Doose S, Siebert R, et al. FCGR3 variants and expression of human neutrophil antigen-1a, -1b, and -1c in the populations of northern Germany and Uganda. *Transfusion* 2002; 42: 469-75.
15. Fujiwara K, Watanabe Y, Mitsunaga S, et al. Determination of granulocyte-specific antigens on neutrophil FcA receptor IIIb by PCR-preferential homoduplex formation assay, and gene frequencies in the Japanese population. *Vox Sang* 1999; 77: 218-22.
16. Kuwano ST, Bordin JO, Chiba AK, et al. Allelic polymorphisms of human fcgamma receptor IIa and Fcgamma receptor IIIb among distinct groups in Brazil. *Transfusion* 2000; 40: 1388-92.
17. Covas DT, Kashima S, Guerreiro JF, et al. Variation in the FcgammaR3B gene among distinct Brazilian populations. *Tissue Antigens* 2005; 65: 178-82.
18. Avena SA, Goicoechea AS, Rey J, et al. [Gene mixture in a population sample from Buenos Aires City]. *Medicina (B Aires)* 2006; 66: 113-8.



Grupo Cooperativo Iberoamericano de Medicina Transfusional

Programa Consulta al Experto

Seguimiento de donantes con pruebas de cribado alteradas

Coordinadora: Dra. León de González, Graciela
Profesor invitado: Dr. Álvarez, Manuel*

INTRODUCCION

Para evitar la transmisión de enfermedades infecciosas a los receptores de transfusiones, se hacen pruebas destinadas a detectar en una muestra de cada donación la presencia de agentes infecciosos o marcadores de los mismos. Las pruebas para la detección directa de microorganismos se basan generalmente en el análisis de ácidos nucleicos (NAT, bien en su modalidad de reacción en cadena de la polimerasa –PCR-, o bien como amplificación mediada por transcripción –TMA-), mientras que las pruebas para la detección de marcadores indirectos, habitualmente anticuerpos, se basan en variantes del inmunoanálisis (IA). Las dos modalidades actualmente más usadas del IA, el enzimoimmunoanálisis (EIA) y el quimioluminoinmunoanálisis (QLIA) se utilizan también para la detección de productos víricos: antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg), antígeno p24 del virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (Ag p24 VIH-1) y antígeno del core del virus de la hepatitis C (Ag VHC).

Aunque los resultados de estas técnicas, especialmente los de las basadas en la tecnología NAT, pueden expresarse de forma cuantitativa, siempre se informan de forma cualitativa (negativo o positivo), cuando se usan para cribado de donaciones. Como siempre se espera que los donantes estén sanos y no infectados, el resultado normal de sus pruebas de cribado es negativo o no reactivo, considerando un resultado positivo o reactivo como una anomalía y, por tanto, la prueba de cribado alterada.

Los donantes, por proceder de una población presuntamente sana y con riesgo bajo de tener una infección, no es correcto informar como positivo un resultado de este tipo sin comprobarlo o, al menos, valorarlo, sobre todo teniendo en cuenta que las pruebas de cribado son más sensibles que específicas y que están diseñadas para que no den resultados falsos negativos, aunque sea a expensas de un aumento de falsos positivos.

GLOSARIO

Prueba de cribado, tamizaje o *screening*. Prueba que se hace a todas las donaciones. En el caso de las pruebas para enfermedades transmisibles, su resultado debe ser normal (generalmente, negativo) para que la donación pueda ser utilizada.

Prueba complementaria. La que se hace para aclarar un resultado anormal en una prueba de cribado o algún aspecto de la historia clínica del donante.

Prueba de confirmación. Prueba que se utiliza para comprobar un resultado positivo en una prueba de cribado y poder decidir, especialmente, la situación del donante. Debe ser de método diferente al de la prueba de cribado. El uso de este término no está admitido generalmente y para algunos las pruebas llamadas de confirmación deberían incluirse en las complementarias.

*Centro de Transfusión Valencia - España. alvarez_man@gva.es

Publicado por el Grupo Cooperativo Iberoamericano de Medicina Transfusional (GCIAMT), año 2012. www.gciamt.org

Negativo o no reactivo. Resultado que indica la ausencia del marcador buscado en la muestra analizada, de forma que, si corresponde a una donación, permite su uso transfusional.

Positivo o reactivo. Resultado que indica la presencia del marcador buscado en la muestra analizada, de forma que, si la muestra es de una donación, no permite la utilización de ésta.

Inicialmente reactivo o positivo (IR). Resultado positivo en una prueba de cribado y negativo al repetir la prueba con reactivos idénticos, utilizando el mismo tubo piloto y plasma de la donación.

Repetidamente reactivo o positivo (RR). Resultado positivo en una prueba de cribado y en al menos una de las dos repeticiones al hacer la prueba con reactivos idénticos utilizando el mismo tubo y plasma de la donación.

Falso positivo. Resultado repetidamente reactivo con pruebas de confirmación negativas. Cuando este resultado no se debe a un error operativo y se repite en varias donaciones se denomina **falso positivo biológico**,¹ que frecuentemente se asocia al aumento de la producción de anticuerpos experimentado durante una respuesta inmunitaria.

Indeterminado, dudoso o no concluyente. Resultado de una prueba complementaria o de confirmación (generalmente, inmunoblot), que no puede clasificarse como negativa pero que no cumple criterios para ser informada como positiva. En la actualidad, las pruebas NAT permiten informar de forma definitiva a los donantes con este tipo de resultados, la mayor parte de los cuales son falsos positivos biológicos.

Positivo confirmado. Resultado repetidamente reactivo con pruebas de confirmación positivas.

VALORACION Y COMPROBACION INICIAL DE LAS PRUEBAS DE CRIBADO ALTERADAS

Un resultado alterado de una prueba de cribado obliga a que todos los productos de la donación sean bloqueados hasta que exista la certeza de que pueden ser liberados sin daños para cualquier receptor. Por el tipo de pruebas que se hacen en centros de donación, es difícil que alguno de sus resultados obligue a una comunicación urgente al donante, lo que permite tomar una serie de medidas antes de intranquilizarlo innecesariamente.

1. Comparación del resultado señal / cut-off con los resultados de las otras donaciones. Los responsables de los laboratorios para prevención de enfermedades transmisibles pueden predecir con certeza muchas veces si una donación es falsa o verdadera positiva, por

su cociente entre la señal de lectura y el valor de corte o *cut-off*. Valores próximos a este último suelen ser falsos positivos y en ocasiones valores de hasta 20 veces el *cut-off* también lo son, mientras que, dependiendo de la técnica, señales de 4 veces el valor de corte corresponden a donaciones verdaderamente positivas.

2. Consideración de un error de procesamiento (contaminación por manipulación, arrastre, deterioro de reactivos, mal funcionamiento de los equipos o reactivo inadecuado -solución de parada con cationes-)

2.1. Contaminación por manipulación o arrastre. Las concentraciones de HBsAg en sangre pueden ser tan altas, que el dispensado con puntas lavables no desechables y los aerosoles formados al destapar o dispensar pueden causar contaminación y resultados fuertemente positivos, en muestras contenidas en tubos próximos al de la donación verdaderamente positiva. En los EIA en microplaca de HBsAg es típica la imagen de una columna contaminada con disminución gradual del color en el sentido de lavado. A veces la contaminación afecta no solo al marcador objeto de la prueba de cribado sino también a los marcadores objeto de las pruebas complementarias (anticuerpo frente al antígeno del core, HBcAc)

2.2. Deterioro de reactivos. También en técnicas de EIA en microplaca que usan sustratos que cambian de color por oxidación, como la ortofenilendiamina (OPD), la exposición del reactivo a la luz o la preparación con mucha antelación puede hacer que aparezca la mayor parte de una placa con un fondo de color que hace calificar la mayoría de las muestras como positivas.

2.3. Mal funcionamiento de los equipos. El mal funcionamiento de un lavador de microplacas puede producir falsos positivos en la mayor parte de una placa, en una columna o en muestras aisladas, sobre todo si no se elimina bien el conjugado.

2.4. Utilización de reactivos inadecuados. Por ejemplo, una solución de parada elaborada con ácido sulfúrico de pureza insuficiente y con elevadas concentraciones de cationes puede producir falsos positivos en las técnicas de EIA que utilizan sustratos que producen color al oxidarse, si bien lo normal es que el aumento de color afecte de forma homogénea a todas las muestras de la microplaca.

3. Repetición de tubo y bolsa con el mismo reactivo. Esta práctica es importante no solo para decidir el destino de la donación y la continuidad del donante como tal, sino también como mecanismo adicional de seguridad, ya que en caso de mala asignación de tubos piloto (positivos) a una bolsa negativa, la repetición de la prueba con plasma de esta última pondría en evidencia una discordancia en los resultados tubo-bolsa que alertaría sobre la existencia de una bolsa infectada a la que se le asignaron por error tubos piloto de una bolsa negativa.

3.1 Si las dos repeticiones son negativas, la donación se denomina inicialmente reactiva y puede considerarse como negativa. La mayoría de los protocolos consideran que estas donaciones son negativas y ap-

tas para trasfundir.

3.2 Si una o las dos repeticiones son positivas, la donación se denomina repetidamente reactiva, debe desecharse y realizar más pruebas para calificarla como positiva falsa o verdadera.

4. Utilización de otro reactivo para cribado. Este enfoque, denominado estrategia de inmunoanálisis secuencial,¹ permite acelerar la clasificación de las donaciones repetidamente reactivas y reducir el número de pruebas de confirmación (inmunoblot), con la consiguiente reducción de costes. Si una donación es RR al analizarla por una prueba de cribado y negativa al analizarla con un segundo inmunoanálisis, puede considerarse que el resultado es un falso positivo biológico, siempre que la sensibilidad de ambas pruebas sea similar. En estos casos, se desecha la donación pero no hace falta molestar al donante.

5. Uso de pruebas complementarias, de confirmación o basadas en otro principio. Ante un HBsAg fuertemente positivo y en caso de no poder hacer una prueba de neutralización para confirmarlo, la presencia de HBcAc y HBeAc refuerza la posibilidad de que se trate de una infección por virus de la hepatitis B (VHB). Excepto en los raros casos de mutantes de VIH y donantes que sean controladores de élite, se detecta en los infectados por VIH anticuerpos y ARN del virus simultáneamente. Un resultado anti-VHC RR y ARN de VHC negativo, especialmente si también es positivo con un segundo IA, hace aconsejable un inmunoblot.

6. Valoración durante entrevista personal con el donante. En caso de poder hacerla, una historia detallada puede contribuir a aclarar resultados dudosos o que no encajan entre sí.

COMUNICACION AL DONANTE

A) Necesidad y obligatoriedad de la comunicación

El fin principal de los laboratorios de enfermedades transmisibles de los centros de donación es evitar la transmisión de enfermedades por transfusión. Una vez cumplida esta obligación, al desechar todas las donaciones repetidamente reactivas en las pruebas de cribado, los responsables de aquellas unidades y de los centros de donación tienen que cumplir sus obligaciones con los donantes y, a través de ellos, con la sociedad. Una infección representa un riesgo no solo para quien la padece sino también para quienes tienen diferentes formas de contacto con la persona infectada. Por tanto, ante la sospecha de que un donante padece una enfermedad transmisible, además de evitar que se transmita por transfusión, tenemos la obligación inexcusable de avisar al donante, para intentar detener la progresión de su enfermedad y para cortar la cadena de transmisión. Hay que tener en cuenta también a los donantes sanos que de forma repetida presentan re-

sultados falsos positivos biológicos que obligan a desechar sus donaciones.¹ Hace 18 años, los doctores Celso Bianco y Debra Kessler concluyeron un artículo² afirmando: "Tenemos la obligación de decirle a los donantes voluntarios todo lo que hemos aprendido sobre ellos. Tienen derecho a saber". Esta obligación es aplicable no sólo a los donantes altruistas, sino también a los de reposición y a los retribuidos.

B) Anomalías que deben comunicarse

1. Las que suponen un riesgo para la salud del donante y de sus contactos.
 - 1.1. Resultados de serología positivos confirmados.
 - 1.2. Resultados de NAT positivos comprobados.
2. Las que suponen motivo de exclusión como donante.
 - 2.1. Pruebas indeterminadas, dudosas o no concluyentes.
 - 2.2. Falsos positivos repetidos en dos o en tres ocasiones.
 - 2.3. Pruebas complementarias positivas, por ejemplo, HBcAc positivo con HBsAc negativo. (En algunos países la determinación de HBcAc es una prueba complementaria, pero en otros es una prueba de cribado).

C) Características que debe tener la comunicación

- 1 Rápida, cumpliendo los plazos de las normas reguladoras si las hay.
- 2 Respetuosa con la confidencialidad de los datos del donante.
- 3 Exacta, clara y comprensible por el donante.
- 4 Adaptada a las características socioculturales de la población (funcionamiento y uso del servicio postal, disponibilidad de teléfono móvil, servicio de transporte público) y al marco geográfico (dispersión de la población, magnitud de la distancia al centro de donación o a los puntos de colecta)
- 5 Debe quedar registrada, tanto el hecho de la comunicación en sí como las incidencias que ocurren durante el proceso.
- 6 Cara a cara. Siempre que sea posible, la comunicación debe hacerse personalmente,³ por consideración al donante, al que se le puede aclarar mejor las dudas y también porque se puede obtener más información.

D) Medios para hacer la comunicación

1. Por correo. Es la forma más cómoda para el centro de donación. Puede utilizarse para los resultados de las pruebas de sífilis, VHB, VHC, Chagas y Paludismo, así como para las de VIH y HTLV cuando el donante no ha respondido a un aviso postal y otro postal más telefónico.² Es la única forma posible de notificación cuando se dispone de dirección postal del donante pero no de número de teléfono o la comunicación mediante éste no se puede llevar a cabo.

La carta debe decir:²

- a. Usted tiene resultados positivos en las pruebas de cribado A para el marcador de enfermedad B.
- b. Estos resultados han sido (o no han sido) confirmados por pruebas complementarias.
- c. Estos resultados tienen (o no tienen) efectos sobre su salud.
- d. Usted debe (o no debe) acudir a la consulta de un médico.
- e. No puede volver a donar sangre (o puede donar dentro de M meses).
- f. El resultado de esta donación figura en su historial de donante que está registrado en nuestra base de datos.
- g. Estos registros son confidenciales y sus datos sólo pueden salir de ellos por orden de un juez o si usted lo autoriza por escrito.
- h. Si tiene dudas, por favor póngase en contacto con nosotros llamando a este número en el siguiente horario.

Esta carta debería ir acompañada siempre de una hoja informativa en la que se describan la prueba, la enfermedad, las consecuencias para el donante, su familia y sus contactos, así como las medidas para prevenir la transmisión de la enfermedad a sus familiares y contactos, incluidas parejas sexuales.

2. Citación postal y entrevista personal. Es una forma idónea cuando se dispone de un buen servicio postal y las distancias en la zona son inferiores a unos 100 kilómetros, con buenas comunicaciones. Se envía citación genérica por correo con acuse de recibo ofreciendo la posibilidad de modificar la fecha y hora de la cita por teléfono, medio por el que nunca se informa de la naturaleza de la anomalía. En casos especiales de imposibilidad de desplazamiento se puede ofrecer al donante que acuda al punto de colecta más próximo a su domicilio en vez de acudir al centro de donación. Puede considerarse la posibilidad de que se desplace la persona o personas que informan habitualmente. Si el donante no acude a dos citaciones, se archivan sus resguardos y se considera la posibilidad de mandarle la información sobre su donación en un modelo similar al descrito en el punto anterior.

3. Citación telefónica y entrevista personal. Es una variante del anterior, utilizada por la Cruz Roja Americana para informar los resultados positivos para VIH en donantes. Se envía una carta al donante por correo certificado invitándolo a que telefonee al centro para concertar una cita para hablar sobre su última donación. La persona que programa la cita no conoce la naturaleza de la anomalía y no puede revelarla, limitándose a fijar un lugar, fecha y hora para la cita.³ En caso de que el donante no responda a dos intentos de comunicarse con él, hay que considerar enviarle la información por correo certificado con acuse de recibo.

4. Comunicación telefónica. Queda reservada para zonas en las que no funciona el correo o casos en los que se supone que el donante no va a entender la información escrita o no va a atender un envío postal. Se telefonea al donante y se concierta con él una nueva conversación, cuya llamada será efectuada por la persona que informa. De esta manera, se puede confirmar la identidad del donante preguntándole su nombre completo, fecha de nacimiento, dirección, número de teléfono, fecha y lugar de donación, tipo de producto donado y hora aproximada del día en la que hizo la donación.³ Conforme avanza la entrevista y según como responda el donante, se va decidiendo la información que se proporciona y la forma en que se notifica. Es importante dejar al menos un resumen del contenido de la llamada, que puede hacerse ante un testigo, y archivar el resumen con el historial del donante.

E) Contenido de la comunicación en la entrevista personal.

Debe consistir en los puntos que figuran en la carta de notificación expuestos en el apartado D) 1:

1. Pruebas de cribado y marcador que han dado resultado anómalo.
2. Resultado de las pruebas complementarias si se han hecho.
3. Repercusión sobre la salud del donante y posibilidades de tratamiento.
4. Posibilidad de contagio para familiares y allegados. Medidas preventivas.
5. Medidas higiénico-dietéticas que debe adoptar el donante de forma inmediata.
6. Mecanismo y momento del contagio. Si el ambiente es propicio, se puede consultar al donante sobre uso de drogas y hábitos sexuales. Además, hay que preguntarle si ha recibido transfusiones y si ha hecho donaciones anteriores, solicitando su autorización para hacer *look-back* de estas donaciones.
7. Necesidad de acudir a la consulta de un médico. Lo ideal es tener un acuerdo con un especialista, servicio hospitalario o centro especializado, del tipo de "Centro de información y prevención del SIDA", para dirigir al donante de la forma más directa posible, ya que la perspectiva de tener que peregrinar con la burocracia a costas puede disuadirlo de acudir al sistema sanitario.
8. No puede volver a donar sangre (o puede volver a donar dentro de un tiempo).
9. Inclusión del resultado de esta donación en el historial del donante, que queda registrado en la base de datos del centro extractor.
10. Estos registros son confidenciales y sus datos solo pueden salir de ellos por orden de un juez o si el donante lo autoriza por escrito.
11. Si se considera que el donante va a necesitar ayuda o soporte psicológico, facilitar una dirección y teléfono donde pueda obtenerlo. Si el donante parece desorientado, desvalido o con intenciones de suicidio, puede ser necesario ponerlo en contacto con un servicio de ayuda o trasladarlo al mismo.

12. Ofrecer que en caso de dudas, vuelva a ponerse en contacto con el centro de donación, facilitando un número de teléfono y horario de atención.

13. Solicitar que firme la hoja en la que se ha recogido la información, con una indicación del tipo "He sido informado de que soy portador de ...", al lado del número de documento de identidad. Esta hoja debe ser archivada.

F) Condiciones mínimas de la entrevista

1. Confidencialidad. Debe hacerse en un sitio adecuado, que reúna condiciones para hacerlo agradable y que garantice la confidencialidad de la conversación.

2. Es conveniente que al principio, hasta que haya respondido a las preguntas sobre posibles causas de transmisión de la infección, el donante esté sin acompañante. Después, si el donante lo autoriza y prefiere, puede estar presente un acompañante.

3. En casos raros puede ser necesario un equipo de dos personas para informar, aunque una de ellas actúe esencialmente como testigo.

G) Obtención de una muestra de sangre para comprobación de la anomalía

Debe aprovecharse la entrevista personal para obtener una segunda muestra o muestra de comprobación, que puede ser analizada en el propio centro o remitida a un centro de referencia y de la que se puede conservar una alícuota en una seroteca de donantes con anomalías. Los resultados de esta segunda muestra deben enviarse por correo certificado al donante.

H) Seguimiento posterior del donante

Después de informar a los donantes positivos confirmados de serología, positivos comprobados de NAT, repetidamente reactivos con pruebas complementarias no concluyentes y falsos positivos biológicos, se analiza la muestra de comprobación y se envían los resultados al donante por correo certificado. Esta carta debe contener:

1. Los resultados de las pruebas, expuestos de forma clara.

2. Una sentencia breve del tipo "Estos resultados significan que" "presenta Usted una infección por el virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1, que produce el SIDA"; "es Usted portador de anticuerpos frente al virus de la hepatitis C": "Usted presenta un resultado falso positivo para una prueba de anticuerpos frente a *Trypanosoma cruzi*, el parásito que produce la enfermedad de Chagas".

3. La indicación "debe acudir a su médico" o similar (hospital, centro de salud) y "no puede volver a donar sangre".

4. En el caso de los falsos positivos, una expresión del tipo "aunque los resultados falsos positivos no suponen problemas para su salud, no debe donar, porque

la ley no permite utilizar su sangre y habría que descartar sus donaciones".

5. Una expresión de gratitud por haber donado y el ofrecimiento de que se ponga en contacto con el centro si tiene alguna duda.

Esta carta concluye las obligaciones del centro con los donantes que presentan infecciones o enfermedades. En el caso de los donantes con resultados falsos positivos, queda la posibilidad de recuperarlos si se cambia o se suprime una prueba de cribado, por lo que es aconsejable disponer de un registro de los mismos, para poder citarlos y analizar una muestra de su sangre que, en caso de resultados normales con la nueva prueba, permitiría que volvieran a donar. Como ejemplo de acción en caso de supresión de una prueba sirve lo que ocurrió en España con la determinación de alanina-transaminasa (ALT) en el año 2006. Los donantes rechazados por haber presentado un resultado anormal de ALT en tres ocasiones y que tenían marcadores de hepatitis B y C normales pueden volver a donar.

I) Comunicación de los resultados falsos positivos

Constituye un reto para los centros de donación, ya que el concepto "falso positivo" es difícil de entender no solo para el donante sino en ocasiones para su médico.⁴ Un donante que presenta estos resultados debe ser informado y, como la experiencia demuestra que estos resultados falsos positivos biológicos tienden a perpetuarse si no se cambia de reactivo, lo correcto es decirle que deje de donar hasta que se le vuelva a citar (cuando se cambie de reactivo o se suprima la prueba de cribado para la que presenta resultados falsos positivos). Para intentar explicarle su situación pueden usarse símiles como: la prueba de cribado es parecida a la alarma del arco del escáner de los aeropuertos, que a veces suena aunque los pasajeros no lleven armas o explosivos. En cuanto a la causa de la reactividad inespecífica (según el nivel cultural del donante), se le puede decir que su cuerpo no hace las defensas a medida, sino que las va haciendo con piezas ya diseñadas, de forma que después de una de las muchas infecciones que pasamos a lo largo del año (faringitis, otitis, conjuntivitis...) una de esas piezas ha salido defectuosa y actúa como si fuera un anticuerpo contra el virus de la hepatitis C en vez de actuar como contra el microbio que produjo la infección que ha padecido el donante.

J) Donantes de productos trasfundidos a receptores que han desarrollado infecciones

Con la sensibilidad que tienen las pruebas de cribado actuales, especialmente las basadas en tecnología NAT, la transmisión de infecciones por transfusión es un hecho raro, generalmente más raro que la adquisición comunitaria o nosocomial de esas infecciones. De todas formas, si comunican desde un hospital que una persona que ha recibido hemocomponentes ha desarrollado una hepatitis B ó C, una infección por VIH o

una infección por *Trypanosoma cruzi*, el centro de donación tiene la obligación de comprobar que la transfusión no ha sido la causa. Como norma general, no deben aceptarse notificaciones que no estén hechas por escrito con la firma legible de una persona responsable e identificable. La notificación debe contener una relación de las pruebas que han dado resultado positivo en el paciente receptor y la identificación inequívoca de los productos trasfundidos.

Con los números de estos productos se identificará a los donantes. Si tienen donaciones posteriores a la comunicada, con una diferencia de tiempo superior al periodo de ventana de las pruebas utilizadas, no se molestará a los donantes. Si no tienen donaciones posteriores a la supuestamente implicada o las tienen con diferencias cortas de tiempo (por ejemplo, por tratarse de aféresis de plaquetas o de plasma), se citará al donante para hacer las pruebas pertinentes. Una vez terminada la investigación, se informará al centro que ha comunicado la infección del receptor una de estas tres posibilidades:

1. Todos los donantes son negativos, por haber donado con posterioridad y/o por haber sido citados y analizada una muestra de su sangre. Según el estado

actual de nuestros conocimientos, la transfusión no ha sido la causa de la infección en el receptor.

2. Todos los donantes son negativos pero el estudio no se ha completado, porque alguno de los que no había vuelto a donar no ha sido localizado, no ha acudido o ha fallecido. No podemos afirmar que la transfusión ha sido la causa, pero tampoco podemos descartarlo.

3. Alguno de los donantes tiene marcadores positivos y su sangre puede haber sido causa de la infección. Esto debe ser comprobado estableciendo la identidad entre el microorganismo encontrado en el donante y en el receptor infectado.

REFERENCIAS

1. Kiely P, Wood E. Can we improve the management of blood donors with nonspecific reactivity in viral screening and confirmatory assays? *Transfus Med Rev* 2005; 19: 58-65.
2. Bianco C, Kessler D. Donor notification and counseling management of blood donors with positive test results. *Vox Sang* 1994; 67, S3: 255-259.
3. Rios JA, Koch TM. How do I tell a blood donor that he or she has a positive HIV test? *Transfusion* 2009; 49: 2024-2033.
4. Holland PV. Donor deferral registries: an ineffective system whose time is passed. *Transfusion* 2008; 48: 46-7.



Lectina de *Arachis hypogaea* para estudiar la activación de criptoantígenos eritrocitarios por enzimas bacterianas

Balaguera Gualteros, Angela*; García Rosasco, Marcela**;
Valverde, Juana**

INTRODUCCION

El antígeno T es un criptoantígeno presente en la glicoforina A y B de la membrana eritrocitaria, que no está expuesto normalmente en la superficie. Enzimas proteolíticas producidas por ciertos organismos como *Clostrida* sp., *Streptococo pneumoniae* y virus de la influenza, remueven los residuos de ácido siálico y exponen el antígeno T, causando la activación T. Esta ha sido informada en neonatos con sepsis y enterocolitis necrotizante (NEC) y en niños con neumonía por neumococo. Todos los productos que contienen plasmas de adulto tienen volúmenes variables de anti T, un anticuerpo "natural" IgM dependiente de complemento. Se han informado grados variables de hemólisis intravascular, que incluyen casos fatales, asociados con la infusión pasiva de anti T en neonatos con activación T. Esta activación T puede no ser detectada con las pruebas corrientes de compatibilidad, deben utilizarse lectinas vegetales especialmente la de maní (*Arachis hypogaea*). Del 10% al 15% de los neonatos sanos y hasta 30% de los infantes con NEC y 13% de los neonatos en cuidado intensivo exhiben activación T o sus variantes¹.

El conocimiento de la activación T tiene su origen en la observación inicial de que las suspensiones de hematíes podían hacerse aglutinables por suero ABO-compatibles tras permanecer durante muchas horas a temperatura ambiente, y que esta aglutinación se asociaba con la infección de la suspensión por ciertas bacterias productoras de enzimas (Hubener, 1925; Thomsen, 1927; Friedenreich, 1930). Muchísimos

microorganismos, entre los que se hallan los neumococos, los estreptococos, los estafilococos, los clostridios, *E. coli*, *V. cholerae* y los virus de la gripe son capaces de modificar los hematíes *in vitro*².

Lo glóbulos rojos T-activados son aglutinados por el suero de la mayoría de sujetos adultos, pero sólo muy raramente los aglutina el suero de los recién nacidos.

En el presente estudio se extrajo la lectina de maní, se prepararon sueros anti-T, sueros control y se utilizó la técnica del polibrene para demostrar la exposición del antígeno T y la efectividad de la lectina vegetal.

OBJETIVOS

El objetivo general de este trabajo fue verificar la pérdida de ácido siálico y consecuente exposición del antígeno T eritrocitario por acción microbiana *in vitro*.

A partir de esto se plantearon los siguientes objetivos específicos:

- Extraer lectina de *Arachis hypogaea* de especificidad anti-T.
- Exponer antígeno T en eritrocitos por acción espontánea de neuraminidasas microbianas.
- Evaluar la exposición de antígeno T frente a anti-T humano (*pool* de sueros de adultos sanos) y anti-T (lectina de *Arachis hypogaea*).
- Evaluar la pérdida simultánea de ácido 5 NAc neuramínico por acción enzimática utilizando la técnica de Polibrene.

*Banco de Sangre Hospital Pablo Tobón Uribe, Medellín, Colombia. abalaguera@hptu.org.co

**Laboratorio de Inmunoematología – Dpto. Bioquímica Clínica UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO, Argentina. mgrosasco@yahoo.com.ar
nitavalverde@yahoo.com.ar

MATERIALES Y METODOS

EXTRACCION DE LECTINA anti-T: Se trituraron en mortero semillas de maní crudas, agregando 4 volúmenes de PBS e incubando a temperatura ambiente por 18 hs. Se centrifugó y filtró el sobrenadante. Se guardaron alícuotas a -20 °C.

PREPARACION DE POOL DE SUEROS anti-T: Se seleccionaron 20 sueros de adultos sanos y se realizó un *pool* como fuente de anticuerpos anti-T. Se guardaron alícuotas a -20 °C.

PREPARACION DE POOL DE SUEROS CONTROL: Se seleccionaron 20 sueros de cordones de recién nacidos carentes de anticuerpos anti-T como control negativo. Se realizó un *pool* y se guardaron alícuotas a -20 °C.

TECNICA DE POLIBRENE: El bromuro de hexadimetrina (polibrene) es un policatión que aglutina en forma inespecífica hematíes normales (cargados negativamente), pero no aglutina hematíes deficitarios en ácido siálico (carga negativa reducida) y que han desmascarado el Ag T.

SELECCION DE MUESTRAS: Se seleccionaron 10 muestras de sangre total de grupo sanguíneo O y se dejaron a temperatura ambiente para inducir la contaminación microbiana.

A partir del día 1 y diariamente se enfrentaron los GR al 5% con:

- Anti-T lectina de maní
- Anti-T suero de adulto
- Suero de cordón
- Polibrene

RESULTADOS

Durante el estudio se observó la negativización del polibrene lo que demuestra la pérdida de ácido siálico. Simultáneamente las reacciones con la lectina de maní y el suero de adulto lentamente pasaron de negativo a positivo.

La reacción con el suero de cordón siempre permaneció negativa.

Los resultados con Polibrene, lectina de maní y suero de adulto se muestran en las tablas I, II y III.

Tabla I. Resultados técnica del Polibrene.

	DIAS															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	3+	3+	3+	3+	3+	2+	1+	1+	1+	1+	+/-	+/-	+/-	-	-	-
2	3+	3+	3+	2+	2+	2+	1+	1+	1+	1+	+/-	+/-	+/-	+/-	-	-
3	3+	3+	3+	2+	2+	2+	1+	1+	1+	1+	+/-	+/-	+/-	+/-	-	-
4	3+	3+	3+	3+	3+	2+	1+	1+	1+	1+	+/-	+/-	-	-	-	-
5	3+	3+	3+	3+	3+	2+	1+	1+	1+	1+	+/-	+/-	-	-	-	-
6	3+	3+	3+	3+	3+	2+	1+	1+	1+	1+	+/-	-	-	-	-	-
7	3+	3+	3+	2+	2+	1+	1+	1+	1+	1+	+/-	+/-	+/-	+/-	-	-
8	3+	3+	3+	2+	2+	2+	1+	1+	1+	1+	+/-	+/-	+/-	+/-	-	-
9	3+	3+	3+	2+	2+	2+	1+	1+	1+	1+	+/-	+/-	+/-	+/-	-	-
10	3+	3+	3+	2+	2+	1+	1+	1+	1+	1+	+/-	+/-	+/-	+/-	-	-

Tabla II. Resultados con lectina de maní.

MUESTRA	DIAS															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+/-	1+	1+
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1+	1+
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2+	2+
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+/-	+/-	1+	1+
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+/-	+/-	1+	2+
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+/-	+/-	+/-	1+	1+
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1+	2+
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1+	2+
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1+	1+
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1+	2+

Tabla III. Resultados con suero de adulto

MUESTRA	DIAS															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+/-	1+	1+
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1+	1+
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1+	2+
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+/-	+/-	1+	1+
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+/-	+/-	1+	2+
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+/-	+/-	1+	1+
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1+	2+
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1+	2+
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1+	1+
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1+	2+

ANALISIS DE RESULTADOS Y CONCLUSIONES

- Se observó que el antígeno T, normalmente oculto en los eritrocitos humanos, quedó expuesto por la acción de neuraminidasas bacterianas, en este caso tras permanecer a temperatura ambiente por varios días induciendo así la contaminación bacteriana.
- El Polibrene, polímero de carga positiva que provoca agregación espontánea de eritrocitos normales al neutralizar su carga superficial negativa producida por el ácido siálico, pasó de reacciones fuertemente positivas a negativas (Tabla I). A medida que se fue perdiendo el ácido siálico de la membrana fue disminuyendo la reactividad eritrocitopolicación.
- La lectina de maní, *Arachis hypogaea* de especificidad anti-T aglutinó los eritrocitos con el paso de los días (Tabla II), demostrando la exposición del antígeno T. Esta lectina de fácil obtención es una herramienta fundamental para la identificación de estos eritrocitos modificados.
- Se observó la asociación entre la pérdida de ácido siálico demostrada por la falta de aglutinación frente al polibrene, y la aparición del antígeno T por la reacción creciente frente al *pool* de sueros de adultos (Tabla III).
- Los glóbulos rojos T-activados son aglutinados por el suero de la mayoría de sujetos adultos, pero no por el de cordón o de recién nacidos, por este motivo se utilizó un *pool* de suero de cordón como control negativo obteniendo siempre el resultado esperado.
- Según la literatura las pruebas con lectina de maní anti-T son mucho más sensibles que las realizadas con suero de adulto. En el presente estudio la reacción fue similar.

DISCUSION Y TRANSFERENCIA

El análisis de los resultados obtenidos en este trabajo experimental destaca la efectividad del bromuro de hexadimetrina (polibrene) para revelar la pérdida de ácido siálico.

La lectina de maní resultó efectiva por su reconocimiento específico de la estructura Gal- β (1-3)-GalNAc – Serina/Treonina desenmascarado por acción de enzimas microbianas, lo mismo que el *pool* de sueros de adulto conteniendo anti-T natural.

Los estudios realizados en forma experimental *in vitro* en muestras con contaminación bacteriana, servirán de punto de partida para la transferencia e implementación de estudios similares en sangre de recién nacidos con NEC para verificar la exposición del antígeno T y eventualmente, evaluar la respuesta al tratamiento antibiótico.

Si bien no existe consenso a nivel mundial sobre la necesidad de realizar un tamizaje de rutina de anticuerpos anti-T en plasma de donantes, hay coincidencia en que existe riesgo potencial de reacciones hemolíticas en recién nacidos pero no está incluido en el protocolo pretransfusional por razones operativas³.

Se propone realizar de rutina el estudio con lectina anti-T y *pool* de suero de adultos, en niños con poliaglutinabilidad y enterocolitis necrotizante y la prueba cruzada pretransfusional con el plasma a transfundir en paralelo con suero de adulto y lectina de maní a todos los recién nacidos con requerimiento transfusional en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatal.

Frente a un resultado positivo que corrobore la exposición de antígeno T es importante realizar la prueba de compatibilidad (plasma del donante / eritrocitos del recién nacido) hasta que se encuentre un plasma con anti-T ausente o de muy bajo título.

El estudio propuesto es muy útil, sencillo de realizar y económico y permitirá evitar las complicaciones transfusionales hemolíticas en prematuros y neonatos con NEC.

REFERENCIAS

1. Cortés Buelvas A. Práctica Contemporánea de la Transfusión Sanguínea. Cali, Colombia 2008.
2. Mollison, PL. Transfusión de Sangre en Medicina Clínica. Editorial Reverté, S.A. España 1987.
3. Engelfriet C., Reesink H. Blood Transfusion in premature or young infants with polyagglutination and Activation of the T Antigen. International Forum. Vox Sanguinis 1999; 76: 128-32.



Incidencia de donaciones de sangre con prueba de antiglobulina directa positiva

Cerdas-Quesada, César*; Balaguera Gualteros, Ángela**

Una prueba de antiglobulina directa positiva (PAD) ocurre ocasionalmente en donantes de sangre normales, y en la mayoría de casos se descubre cuando las unidades presentan incompatibilidades en las pruebas cruzadas. La frecuencia de donantes con PAD positiva es estimada entre 1/9000 y 1/14000.¹

Muchas de estas PAD podrían ser positivas debido a las uniones no específicas de IgG del plasma.² En donantes aparentemente sanos un resultado de PAD positiva puede estar asociado con autoanticuerpos sin ninguna evidencia de hemólisis inmune. Se ha documentado que altos niveles de IgG sérica están asociados con un incremento en la cantidad de IgG citofílicas (asociaciones no inmunológicas) que están presentes en los glóbulos rojos. Niveles normales de IgG citofílicas, y en particular la manera no específica en la cual están unidos a los eritrocitos (la porción Fc no completamente disponible para la unión con la anti-IgG) pueden ser detectadas en las técnicas tradicionales.^{3,4} Varias publicaciones indican que entre el 65 y el 80% de las muestras con PAD positiva, los eluidos son no reactivos, lo que sugiere que no hay anticuerpos presentes en el glóbulo rojo.²

En los últimos dos años realizamos una investigación durante el tamizaje de los donantes de sangre. Se prepararon eluidos de las unidades y los anticuerpos fueron analizados para determinar la subclase de IgG.

Materiales y métodos

Se analizaron 1950 muestras de donaciones del Hospital La Católica proveniente de donantes con edad 35 ± 9 años. De esta población, 1002 fueron hombres y 948 mujeres. A todas las muestras se les realizó una PAD en tarjetas DC-Screening II (IgG, C3d, ctl BioRad). Todos los resultados positivos fueron analizados pos-

teriormente con la tarjeta DC-Screening I (IgG, IgA, IgM, C3c, C3d, ctl BioRad). Las pruebas de aglutinación en gel fueron realizadas de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Brevemente, 50 μ L de una suspensión de glóbulos rojos al 0,8% en LISS (ID-Diluent 2) fue dispensado a cada microtubo de la tarjeta. Las tarjetas fueron centrifugadas a 1030 rpm por 10 minutos usando la ID-Centrifuge 12SII. Las reacciones de aglutinación se clasificaron como fuertemente positivas (4+ y 3+), moderadamente positivas (2+ y 1+) y positivo débil (w+).⁵

A las muestras PAD positiva se les realizó el eluido con la técnica de elución ácida DiaCidel (Diamed, Switzerland, BioRad) según las instrucciones del fabricante.

Resultados

Del total de muestras estudiadas, 3 resultaron PAD positivas. Durante la entrevista realizada a los donantes luego de la citación, no refirieron ingesta de medicamentos y presentaron una entrevista pre-donación normal, al igual que presión sanguínea y temperatura. Las muestras fueron detectadas durante las pruebas de tamizaje del donante. Al 100% de los donantes se les realiza la PAD como parte de la batería de estudios para validar la donación. Dos muestras reaccionaron con fuerte intensidad IgG (1 eluato positivo) y una reaccionó moderadamente contra el C3d (eluato negativo). Las pruebas con anti-IgM e -IgA resultaron negativas. Los eluatos fueron moderadamente reactivos. No se encontró especificidad de los anticuerpos encontrados (especificidad amplia).

A los donantes se les realizó un seguimiento inmunohematológico cada 6 meses por al menos 24 meses y a la fecha, no hay causa aparente para estos

*Especialidad de Inmunohematología y Banco de Sangre, Sistema de Estudios de Posgrado, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. cesar.cerdasquesada@ucr.ac.cr

**Banco de Sangre Hospital Pablo Tobón Uribe, Medellín, Colombia. abalaguera@hptu.org.co

hallazgos. Ninguno de los donantes ha mostrado señales de hemólisis y las pruebas de función hepática y hemograma se encuentran dentro de los rangos de referencia.

Discusión

La PAD detecta anticuerpos, más comúnmente IgG o complemento en la superficie del glóbulo rojo. La caracterización de las IgG unidas a los eritrocitos incluye la identificación de la reactividad y especificidad de los eluatos.⁶

La incidencia de las PAD positivas entre los donantes de sangre ha sido estimada en 1 en 14000.¹ Frecuencias mucho mayores, de 1 en 1000, han sido publicadas.⁷ El aumento en la incidencia de las PAD positivas en la población de donantes de sangre puede ser atribuida a la alta sensibilidad de los métodos utilizados en la actualidad, especialmente las técnicas en gel, por lo que es recomendable confirmar los resultados tanto en una prueba en tubo como con la realización de un eluido.¹ Es por eso que la proporción entre donantes de sangre tiene un rango entre 1:1000 y 1:36000 y más alto en individuos mayores en comparación con donantes jóvenes.⁸

Debido a que la incidencia de la PAD positiva en este estudio fue de 3 en 1950, la magnitud del problema parece pequeña, sin embargo, hay que tomar en cuenta que en muchos laboratorios estas unidades son regularmente detectadas durante las pruebas de compatibilidad, incluso en situaciones de emergencia y que dicha prueba de compatibilidad rápida puede realizarse con una centrifugación inmediata la cual no podría detectar donantes PAD positiva por la sensibilidad de la prueba (las pruebas en gel son tres diluciones más sensibles que las pruebas en tubo). Es importante tomar en cuenta que el requerimiento de pruebas de laboratorio enlaza los recursos humanos y económicos.⁹

Una PAD positiva puede estar relacionada con la edad y ser benigna pero también, puede ser secundaria a una enfermedad autoinmune. Varios factores de riesgo han sido asociados con estos resultados, incluyendo anticuerpos anticardiolipinas, síndrome de inmunodeficiencia adquirida, drogas, fármacos, niveles elevados de inmunoglobulina G séricas, linfomas,

leucemia, cáncer gástrico, cáncer pulmonar, condrosarcoma, carcinoma hepatocelular, mieloma múltiple, etc.⁸ La reacción se debe a una adsorción pasiva de la proteína monoclonal en el glóbulo rojo y esto usualmente no produce hemólisis.¹⁰

En conclusión, también se ha sugerido que una PAD positiva puede predecir la detección clínica de cáncer por meses o años por lo que se ha sugerido la práctica actual de notificar al donante sano de algún resultado positivo¹ y lleva a la pregunta de si es necesario referir al donante al médico pensando en la posibilidad de una enfermedad autoinmune no diagnosticada o desórdenes linfoproliferativos ocultos.⁸

Así que el dilema que plantea es: Deberíamos preocuparnos en detectar donadores con PAD positiva? Deberíamos informar al donante y al médico sobre una PAD positiva?

Referencias

1. Bellia M, Georgopoulos J, Tseveris V, Nomikou E, Vgontza N, Kontopoulou-Griva I. The investigation of the significance of a positive direct antiglobulin test in blood donors. *Immunohematology* 2002;18:78-81.
2. Toy P, Chin CA, Reid ME. Factors associated with positive direct antiglobulin tests in pretransfusion patients. A case-control study. *Vox Sang* 1975;1:47-57.
3. De Figueiredo M, Lima M, Morais S, Porto G, Justicia B. The gel test: some problems and Solutions. *Transf Med* 1992; 2:115-8.
4. Shanwell A, Sallander S, Bremme K, Westgren M. Clinical evaluation of a solid-phase test for red cell antibody screening of pregnant women. *Transfusion* 1999;39:26-31.
5. Marsh WL. Scoring of hemagglutination reactions. *Transfusion* 1972;12:352-3.
6. Arinsburg S, Skerrett D, Kleinert D, Giardina P, Cushing M. The significance of a positive DAT in talasemia patients. *Immunohematology* 2010;26:86-91.
7. Allan J, Garratty G. Positive direct antiglobulina test in normal blood donors. In: Abstracts: 16th Congress Int. Soc Blood Transfusion, Montreal, 1980.
8. Rottenberg Y, Yahalom V, Shinar E, Barchana M, Adler B, Paltiel O. Blood donors with positive direct antiglobulina tests are at increased risk for cancer. *Transfusion* 2009;49:838-842.
9. Cid J, Ortín B, Beltran V, Escoda L, Contreras E, Elites E, Martín-Vega C. The direct antiglobulina test in a hospital setting. *Immunohematology* 2003;19:16-18.
10. Dalal B, Collins S, Burnie K, Barr R. Positive direct antiglobulina test in myeloma patients. Occurrence, characterization, and significance. *Am J Clin Pathol* 1991;96:476-487.



Artículos de Revisión

Activación de antígenos T en neonatos con poliaglutinación y enterocolitis necrotizante

Balaguera Gualteros, Angela*; García Rosasco, Marcela**;
Valverde, Juana**

INTRODUCCION

Los hematíes poliaglutinables son aglutinados por casi todos los sueros humanos normales. Algunas formas de poliaglutinabilidad se deben a la exposición, por acción de enzimas bacterianas, de determinantes antigénicos que forman parte de la estructura de la membrana eritrocitaria normal pero que habitualmente se encuentran ocultos.

La causa más frecuente de poliaglutinabilidad se debe a la exposición del antígeno T, que reacciona con una aglutinina anti-T presente en todos los sueros de individuos normales, excepto en los recién nacidos. Otra forma, la activación Tn, se considera debido a una mutación somática con la aparición de una línea de hematíes que carecen de una enzima esencial para la formación de los antígenos eritrocitarios normales. También en este caso el anticuerpo correspondiente, anti Tn, se encuentra en todos los sueros de adultos normales. Finalmente, la poliaglutinabilidad puede deberse a la herencia de un antígeno (Cad, NOR o HEMPAS) cuyo anticuerpo correspondiente está presente en casi todos los sueros normales¹.

El antígeno T (Thomsen-Friedenreich) β D Gal(1-3) D NAcGal es el oligosacárido precursor de una variedad de carbohidratos de las glicoproteínas eritrocitarias. Esta estructura precede en la biosíntesis a los determinantes M y N, y también se encuentra en otros hidratos de carbono de la membrana celular. Algunas sustancias presentes en ciertos microorganismos o sus

lipopolisacáridos son responsables de la aparición de anticuerpos naturales anti-T, principalmente IgA e IgM, presentes en el suero humano normal. El fenómeno Thomsen-Friedenreich, (Poliaglutinabilidad de los hematíes humanos en ciertas infecciones víricas) se debe al desenmascaramiento del antígeno T críptico por enzimas microbianas que eliminan residuos terminales de ácido siálico en la membrana del hematíe².

En Neonatología, la activación de antígeno T es común en niños con Enterocolitis Necrotizante (NEC) y con infecciones invasivas por *Clostridium perfringens* y *Streptococcus pneumoniae*. La correlación entre la activación T y la gravedad de la NEC es una observación constante en los estudios clínicos y puede reflejar la carga bacteriana.

Otra complicación en estos pacientes es la reacción hemolítica asociada a la transfusión. Las Inmunoglobulinas M anti-T presentes en el plasma transfundido producen reacciones transfusionales importantes en el receptor, el primer caso fue reportado por van Loghen en 1955³. La prevalencia de la activación de antígeno T en neonatos con NEC varía desde 11% hasta 27%⁴.

El objetivo planteado fue realizar una revisión bibliográfica sobre la expresión anómala de criptoantígenos, específicamente antígenos T, en neonatos con poliaglutinación y enterocolitis necrotizante y las reacciones transfusionales hemolíticas que en algunos casos se presentan en estos pacientes.

*Banco de Sangre Hospital Pablo Tobón Uribe, Medellín, Colombia. abalaguera@hptu.org.co

**Laboratorio de Inmunoematología – Dpto. Bioquímica Clínica UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO, Argentina. mgrosasco@yahoo.com.ar
nitavalverde@yahoo.com.ar

ACTIVACION T

La activación T es una de las formas de poliaglutinación más comunes. Esta modificación es causada por cambios en la estructura de la glicoproteína de la membrana de los glóbulos rojos en ciertos estados patológicos, produciendo aglutinación de dichas células transformadas con la mayoría de los sueros de adultos ABO compatibles. La poliaglutinación *in vitro* fue descrita por Hubener en 1925 y luego por Thomsen en 1927, pero Friedenreich estudiante de Thomsen en 1930 fue quien demostró el mecanismo por el cual se hacía presente el antígeno T y lo llamaron hemaglutinación T. La alteración de la membrana del glóbulo rojo es simplemente la eliminación de residuos del ácido N-acetil neuramínico por acción de las neuraminidasas bacterianas.

La escisión de los residuos de ácido neuramínico expone el residuo oculto Gal- β (1-3)-GalNAc, el criptoantígeno T que se puede unir con anticuerpos IgM anti-T que están presentes en el plasma de adultos, produciendo una aglutinación *in vitro* y una posible hemólisis *in vivo*. El fenómeno es generalmente transitorio, a menudo solo dura unos pocos días o semanas y rara vez persiste por meses.

Existen otras variantes de la activación T. La transformación Th es considerada como una forma intermedia o incompleta de la activación T. La poliaglutinación Tk es el resultado de β -galactosidasas microbianas que clivan residuos de galactosa exponiendo el determinante antigénico N-acetilglucosamina, el Tk. La activación Tx se ha descrito en niños con infección por Pneumococo y con anemia hemolítica aguda pero no con infección, sin embargo el mecanismo molecular de esta condición no ha sido clarificado.

La activación Tn se diferencia de la activación T en 3 aspectos importantes: primero porque es persistente; en segundo lugar, porque se acompaña de anomalías hematológicas, y por último porque los pacientes afectados tienen dos poblaciones de glóbulos rojos, una normal y otra que presenta la modificación Tn. Este fenómeno (que a veces se denomina poliaglutinación persistente mixta) se considera debido a una mutación somática que se produce en las *stem cells*, lo que conduce a la aparición de una población de glóbulos rojos anormales. También pueden reconocerse 2 poblaciones de plaquetas Tn+ y Tn⁻¹.

El antígeno Tn surge como consecuencia de una deficiencia de la galactosiltransferasa y las sialiltransferasas que normalmente generan los oligosacáridos unidos por enlaces O-glicosídicos y fijados a las sialoglicoproteínas eritrocitarias. En las membranas de los glóbulos rojos Tn se ha demostrado efectivamente la deficiencia de la β -3-D-galactosiltransferasa correspondiente.

Además se ha comprobado que en los sujetos Tn la población de glóbulos rojos normales, es decir, aquellos que poseen un contenido de ácido siálico normal, tienen una actividad de β -3-D y β -4-D galactosil-

transferasa normal o superior a la normal. La población de glóbulos rojos de bajo contenido de ácido siálico presenta una deficiencia selectiva de β -3-D-galactosiltransferasa pero una actividad normal o incluso aumentada de β -4-D galactosiltransferasa¹. Este tipo de poliaglutinación ha sido asociado a síndromes mielodisplásicos, leucemia aguda en adultos, neutropenia, trombocitopenia y en ciertos casos de anemia hemolítica. Sin embargo en recién nacidos también se ha descrito poliaglutinación Tn (Figura 1).

La exposición del antígeno T está frecuentemente asociada con la producción de neuraminidasas de organismos como *Clostridium perfringens* y *Streptococcus pneumoniae*. Otros organismos implicados son *Bacteroides*, *Escherichia coli* y otros bacilos gran-negativos como *Actinomyces* y el virus de la Influenza. El *Vibrio cholerae* produce neuraminidasas y activación T *in vitro*. El grado de activación T de los glóbulos rojos puede estar influenciado por la cantidad de neuraminidasas en la circulación y probablemente es disminuido por inhibidores de neuraminidasas presentes en el suero. Estos glóbulos rojos transformados son destruidos rápidamente por hemólisis intravascular, secundario a la fijación de complemento e IgM anti-T. Además los glóbulos rojos T activados son eliminados de circulación.

Las IgM anti-T no están presentes en el neonato ni en la temprana infancia, pero sí en la edad adulta. La formación de estos anticuerpos se le atribuye a la estimulación antigénica por la flora intestinal que posee antígenos similares al antígeno T, al igual que a estímulos del medio ambiente⁴.

Los diferentes tipos de activación T se pueden distinguir por la reactividad de los antígenos expuestos a distintas lectinas naturales. Por ejemplo T, Th y Tk reaccionan con la lectina de maní *Arachis hypogaea* que es la más utilizada. Asimismo el antígeno Tn y aun el antígeno T reaccionan con la lectina de soja *Glycine soja* (Tabla I)^{1,5}.

ACTIVACION T EN ADULTOS

La activación T es poco frecuente en la población normal. En adultos de alto riesgo para poliaglutinación a causa de tumores malignos y/o sepsis se encontró que solo 18 de 238 pacientes habían expuesto el criptoantígeno siendo identificado por medio de paneles de lectinas⁴. Una tasa de prevalencia similar del 7% se ha observado en pacientes con Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida que han sido objeto de severas y recurrentes infecciones con organismo conocidos por causar modificaciones en la membrana del glóbulo rojo. En adultos intervenidos quirúrgicamente e internados en cuidados intensivos con septicemia, la activación T se demostró en el 32% de los pacientes⁴. El antígeno Th se ha encontrado en población sana en un 0.5-1.5% de donantes de sangre y en un 6% de mujeres embarazadas⁵.

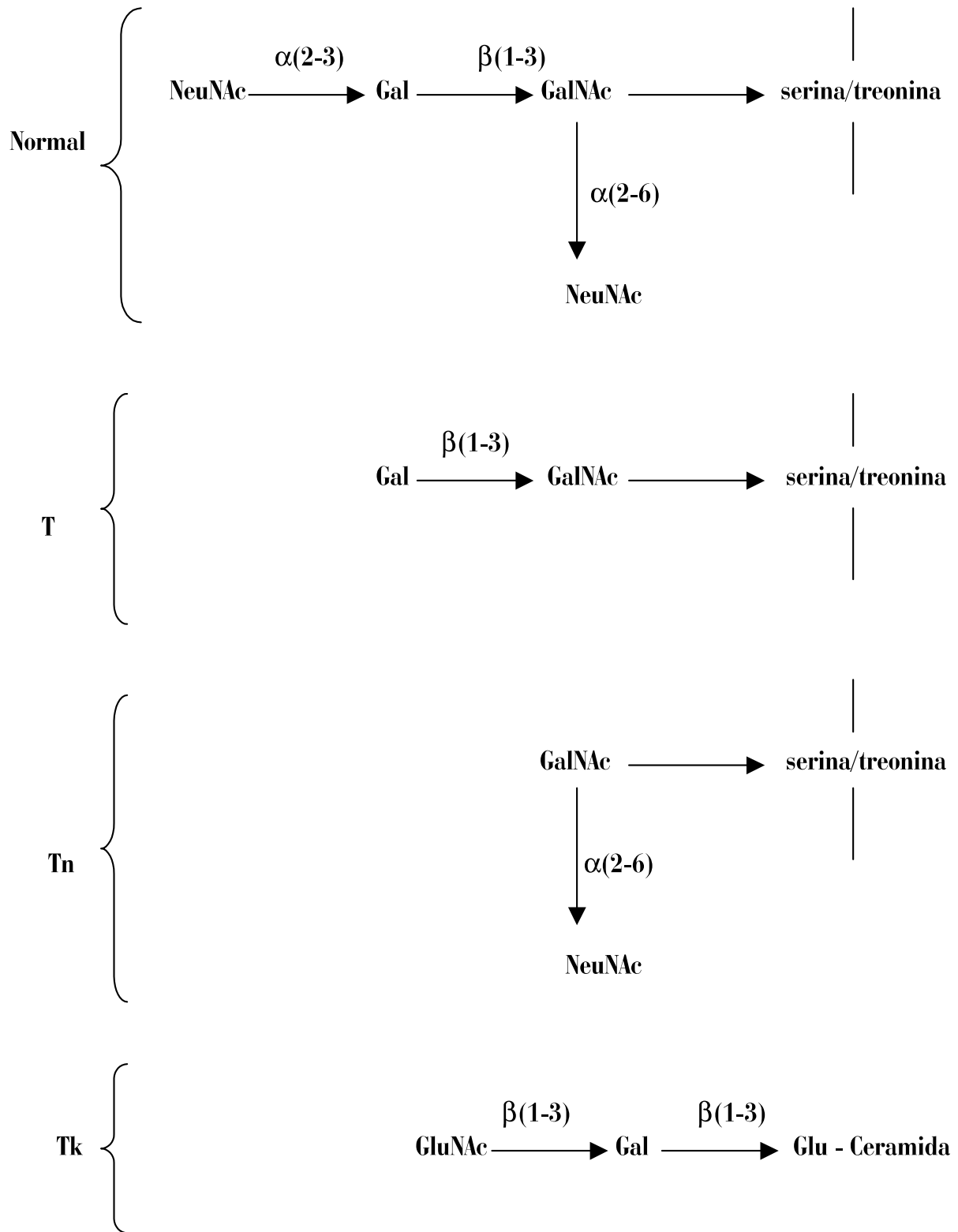


Figura 1. Estructura de las glicoproteínas de membrana del glóbulo rojo normal y con expresión de estructuras modificadas T, Tn, Tk. NeuNAc: Acido N-acetilneuramínico; Gal: D-galactosa; GalNAc: N-acetil-Dgalactosamina; Glu: Glucosa; Gal: Galactosa.

Tabla I. Reacciones con diferentes lectinas.

	<i>Arachis hypogaea</i>	<i>Dolichos biflorus</i>	<i>Glycine soja</i>
T	+	-	+
Tk	+	-	-
Th	+	-	-
Tn	-	+	+

La naturaleza ubicua de los anticuerpos anti-T en los adultos sugiere que la exposición del antígeno T daría lugar a autoaglutinación y hemólisis, pero esto ha sido raramente demostrado y la mayoría de los estudios no indican si los anticuerpos anti-T están presentes en el suero de pacientes durante la enfermedad aguda. La ausencia de dichos anticuerpos en el plasma de adultos con activación T se ha atribuido a la adsorción por parte de los glóbulos rojos o también a la tolerancia inmunológica⁴.

ACTIVACION T Y CANCER

Springer⁶ fue el primero en demostrar la relación entre un antígeno asociado a un carcinoma animal y encontró especificidad T en extractos de carcinomas humanos de estómago, colon y mama. Además, el nivel de anticuerpos circulantes anti-T estaba disminuido en algunos enfermos con carcinomas gastrointestinales o de mama, comparado con lo observado en los controles, y observó que pacientes con cáncer de mama daban respuestas de inmunidad celular tras la aplicación de antígeno T en prueba cutánea. Todos estos datos indican una respuesta inmuno-específica al antígeno T desenmascarado en las células tumorales, y son sugestivos de que dicho antígeno y sus correspondientes anticuerpos pueden ser útiles en el diagnóstico, pronóstico y quizá en el tratamiento de ciertas formas de cáncer².

ACTIVACION T Y ENTEROCOLITIS NECROTIZANTE (NEC)

ENTEROCOLITIS NECROTIZANTE: Es la patología gastrointestinal más frecuente en las unidades de cuidado intensivo neonatal y es una causa importante de morbilidad y mortalidad.

Es una importante enfermedad que ocurre en el período neonatal y la mayoría de los casos suceden en neonatos pretérmino y de bajo peso. Su causa es multifactorial con factores que contribuyen al daño de la mucosa intestinal asociada a infección, isquemia y subsecuentes alteraciones circulatorias, inmunológicas e inflamatorias en respuesta a la injuria. El tipo de ali-

mentación, su volumen, momento y la velocidad en que se administra puede ser un factor coadyuvante. El 90% de las NEC suceden después de haber iniciado la alimentación enteral⁷.

Hay muchas discusiones en cuanto a la patogénesis de la NEC, pero la mayoría de los autores están de acuerdo en que existe un evento, alguna forma de estrés que se produce a un tracto gastrointestinal inmaduro, que conduce a la disrupción de la barrera de la mucosa, invasión bacteriana y proliferación con formación de gas dentro de la mucosa intestinal. Los recién nacidos en etapas tempranas de esta enfermedad, con requerimiento quirúrgico, muestran edema, hemorragia y úlceras superficiales con muy poca inflamación o respuesta celular. Al segundo o tercer día, después de la progresión de la neumatosis, de la necrosis transmural de la pared del intestino y la proliferación bacteriana, se observa evidencia de la reacción inflamatoria. La evidencia que conecta eventos como asfixia al nacimiento, hipotensión, hipotermia, uso de catéteres, exanguinotransfusión, alimentación no materna, anomalías en la motilidad gástrica, aclorhidria neonatal y presencia de *ductus* arterioso con enterocolitis, es contradictoria. Cada una de estas condiciones por sí sola o en conjunto, puede actuar como un factor de estrés que conlleve al daño de la mucosa, pero ninguna ha sido consistentemente asociada con NEC. Esta patología ha ocurrido en recién nacidos aparentemente sanos sin ningún factor que pueda considerarse de riesgo⁸.

Algunas observaciones epidemiológicas sugieren que la NEC es una enfermedad infectocontagiosa de origen nosocomial, que se presenta en grupos temporalmente asociados en una institución; la asociación de algunos casos con un solo agente infeccioso o con alguna alteración de la flora intestinal, el posible beneficio de la leche materna y el beneficio de la administración de antibióticos orales no absorbibles, son razones para considerarla una enfermedad infectocontagiosa.

Desafortunadamente, la evidencia que une la NEC a un agente infeccioso específico es generalmente circunstancial y abre la posibilidad de interpretaciones alternativas. Por lo tanto, la evidencia actual sugiere que la NEC es la respuesta final de un tracto gastrointestinal inmaduro y que múltiples factores actuando solos o combinados producen daño de la mucosa, con colonización o invasión de microorganismos que sólo representan una continuación del proceso patológico⁸.

ACTIVACION T ASOCIADA A ENTEROCOLITIS NECROTIZANTE:

La hemólisis debida a poliaglutinación de glóbulos rojos es una de las complicaciones de la medicina transfusional en recién nacidos prematuros. Fue reportada en 1955 por Loghem y otros estudios se han escrito al respecto, la mayoría en niños con enterocolitis necrotizante. La causa de este tipo de hemólisis se debe a la transferencia pasiva de anticuerpos anti-T en la transfusión de plasma adulto, donde el antígeno T expuesto se une con las IgM anti-T presentes¹⁰.

Informes de hemólisis grave después de la transfusión de componentes sanguíneos en niños con glóbulos rojos T-activados han llevado a algunos médicos a evitar o retrasar la administración de plasma a los recién nacidos, en particular aquellos con NEC, que son un grupo de pacientes en alto riesgo de activación T.

Esto ha planteado la pregunta de si es necesario el estudio de los eritrocitos de niños para activación T de rutina y garantizar la disponibilidad de hemocomponentes de bajo título de anticuerpos anti-T¹¹.

La importancia clínica de la activación T en la medicina neonatal sigue siendo incierta. Boralessa y colaboradores, realizaron un estudio prospectivo con más de 2000 muestras de 375 recién nacidos ingresados en unidades neonatales en un período de 13 meses. Se tuvo en cuenta no sólo la incidencia de la activación T, sino también la activación de las variantes de antígeno T, identificando los eritrocitos con un panel de lectinas. Otro parámetro que se estudió fue la asociación entre el desarrollo de la activación T y sus variantes con la transfusión y las complicaciones clínicas, incluyendo hemólisis. Se encontró que 48 de 375 bebés (12,8%) desarrollaron activación T o variantes en algún momento durante su estancia en la unidad neonatal de cuidados intensivos. Es de destacar que 47 de 48 (98%) bebés tenían variantes de antígeno T expuestas en sus glóbulos rojos. Sólo un niño con activación T clásica reaccionó con ambos *Arachis hypogaea* y *Glycine soja*.¹¹

La NEC definitivamente es una complicación en las unidades de cuidado intensivo neonatal y está asociada con una alta mortalidad. Los bebés con NEC tienen complicaciones sistémicas graves, shock, sepsis y coagulopatías.

El estudio más amplio en activación T y NEC fue realizado por Osborn en 1999. En un período de 11 años diagnosticaron 201 niños con NEC a los que se les realizó de rutina paneles de lectina para identificar antígeno T y Tk con *Glycine soja* y *Arachis hypogaea*. Todos los niños con antígeno T y Tk fueron transfundidos usando plasma libre de anti-T o con bajo título y con productos tales como albumina al 5% y glóbulos rojos lavados 3 veces. La mortalidad de niños con NEC confirmada fue del 16.9% y al 43% se le realizó cirugía. A 27 niños se les identificó antígeno T o Tk activado, de los cuales 18 (67%) necesitaron procedimiento quirúrgico por NEC y 10 (37%) murieron por esta patología o complicaciones asociadas. Se observó hemólisis en 18 pacientes e insuficiencia renal en 14 siendo estas las características más comunes en los bebés con activación T⁹.

Osborn⁹ demostró que se identificaron más bebés con activación T después de introducir las pruebas de rutina que antes de utilizarlas y la mayoría de estos niños necesitaron cirugía y otros murieron. Seges¹² y Klein¹³ en otros estudios observaron el mismo caso, lo que evidencia la alta incidencia de intervención quirúrgica y mortalidad relacionada con la activación T.

Hay pocas publicaciones sobre el antígeno Tk en recién nacidos con NEC. No se han encontrado diferencias significativas entre T y Tk, aunque hubo una

tendencia a una menor mortalidad y tasas más bajas de cirugía con el antígeno Tk⁹.

Los neonatos con NEC y activación T y sus variantes son candidatos a transfusión, esto ha llevado a que los médicos recomienden el uso de hematíes lavados, plaquetas suspendidas en soluciones aditivas, y plasma fresco congelado bajo en anti-T. Si esto se acepta como una norma de la atención clínica, este enfoque tendría importantes costos y consecuencias administrativas para los servicios de transfusión de sangre.

Varios autores sugieren realizar de rutina pruebas para identificar activación de antígeno T. Novak encontró una incidencia de hemólisis significativamente menor post-transfusión (6% vs 24%) y muerte (5% vs 18%) de NEC en 62 lactantes a los que se les realizaron los estudios en comparación con 66 lactantes a lo que no se les habían realizado las pruebas. Los bebés del estudio de Novak no recibieron ningún producto con plasma si tenían el antígeno T activado¹⁴.

Osborn⁹ en su estudio concluye que la activación T y Tk en niños con NEC está asociada con incremento en la incidencia de hemólisis, hiperbilirrubinemia, hipercalcemia, insuficiencia renal, cirugía y muerte. Además su presencia puede reflejar la severidad de la enfermedad.

La presencia de antígeno T no está solo limitada a NEC y ha sido descrita en recién nacidos y niños con variedad de condiciones sépticas, principalmente por neuraminidasas producidas por *Clostridium*, *Bacteroides* y *Pneumococcus*. Hall y colaboradores realizaron un estudio donde el 22% de los neonatos con NEC se derivaron a la Unidad Quirúrgica Neonatal y tenían activación T al momento de la admisión. Sin embargo en este estudio no hubo diferencias significativas en la necesidad de tratamiento quirúrgico entre los grupos de niños con o sin activación T. Esto difiere con otros informes que sugieren que los bebés con activación de antígeno T tienen más probabilidad de requerir tratamiento quirúrgico pero siguen haciendo énfasis en el cuidado al momento de transfundir ya que la hemólisis se identificó en niños con NEC y activación T llevándolos a mal pronóstico. En caso de hemólisis, la exanguinotransfusión puede ser una alternativa para abolir el proceso y permitir la supervivencia¹⁵.

CONCLUSION

Aunque la activación del antígeno T en sí misma no constituye una amenaza para el bebé con NEC, si alerta sobre el riesgo de hemólisis y la presencia de un estadio avanzado de la enfermedad y por lo tanto puede tener importancia pronóstica. La proporción de niños con NEC, que tienen el antígeno T activado es alta, pero parece ser limitado a aquellos con enfermedad avanzada. Es por esto que es conveniente adquirir una política de transfusión para evitar complicaciones adicionales¹⁵.

Si bien no existe consenso a nivel mundial sobre la necesidad de realizar un tamizaje de rutina de anticuerpos anti-T en plasma de dadores, hay coincidencia en que existe riesgo potencial de reacciones hemolíticas en recién nacidos pero no esta incluido en los protocolos pretransfusionales por razones operativas¹⁶.

REFERENCIAS

1. Mollison, P.L. Transfusión de Sangre en Medicina Clínica. Editorial Reverté, S.A. España 1987.
2. Martínez de Salinas J., Cosme A., Blasco E., Torrado J., Arenas J.I., Cuadrado E. Anticuerpos Circulantes anti T (Thomsen-Friedenreich) y expresión anormal de este antígeno en Carcinomas Digestivos. *Inmunología*, 1988; 7(1): Enero-Marzo.
3. Loghen V., Vander H., Land M.E. Polyagglutinability of red cells as a cause of severe hemolytic transfusion reaction. *Vox Sanguinis* 1955; 5: 125-8.
4. Naomi L. Review T Activation. *British Journal of Haematology* 2001; 112: 259-63.
5. Eden A., Manno C. Annotation: Does Red – Cell T activation matter?. *British Journal of Haematology* 2001; 114: 25-30.
6. Springer G. Enzymatic and no enzymatic alterations of erythrocyte surface antigens. *Bacteriology Review* 1963; 27: 191.
7. Capurro H. www.nacerlatinoamericano.org. Sept. 2009
8. Cuñarro A. Guías Unidad de Recién Nacidos, Hospital Universitario Fundación Alcorcón, Pediatría y Neonatología. Madrid 2003.
9. Osborn D.A., Lui K., Pussell P., Jana A.K., Desai A.S., Cole M. T and Tk antigen activation in necrotizing enterocolitis: manifestations, severity of illness and effectiveness of testing. *Archives of Disease in Childhood: Fetal & Neonatal* 1999; 80: 192-7.
10. Ocón P., Collantes J. Defectos congénitos de la glicosilación. *Revista de Diagnóstico Biológico. Publicación Oficial de la Asociación Española de Biopatología Médica* 2005; Vol. LIV(3): Jul-Sept.
11. Borolessa H., Modi N., Cockburn H., Malde R., Edwards M., Roberts I., Letsky E. RBC T activation and hemolysis in a neonatal intensive care population: implications for transfusion practice. *Inmunohematology* 2002; 42
12. Seges R., Kenny A. Bird G., Wingham J., Baals H., Stauffer U. Pediatric surgical patients with severe anaerobic infection: report of 16 T-antigen positive cases and possible hazards of blood transfusion. *Journal Pediatric Surgery* 1981; 16: 905-10.
13. Klein R., Novak R., Novak P. T cryptantigen exposure in neonatal necrotizing enterocolitis. *Journal Pediatric Surgery* 1986; 21: 1155-8.
14. Novak R., Abbott A., Klein R. T cryptantigen determination affects mortality in neonatal necrotizing enterocolitis. *Surgery Gynecology Obstetrics* 1993; 176: 368-70.
15. Hall N., Ong E., Ade-Ajayi N., Fasoli L., Ververidis M., Kiely E., Drake D., Spitz L., Hann I., Mok Q., Pierro A., T cryptoantigen activation is associated with advanced necrotizing enterocolitis. *Journal of Pediatric Surgery* 2002; 37(5): 791-93.
16. Engelfriet C., Reesink H. Blood Transfusion in premature or young infants with polyagglutination and Activation of the T Antigen. *International Forum. Vox Sanguinis* 1999; 76: 128-32.



Presentación de casos

Anticuerpos dependientes de fármacos: Anticuerpos anti-trimetoprima/sulfametoxazol detectados al usar diluyente comercial de glóbulos rojos.

Dr. Cerdas-Quesada, César*

Introducción

Muchas drogas han sido implicadas en la destrucción de los glóbulos rojos, pero las más comunmente mencionadas han sido las cefalosporinas de segunda y tercera generación como se ha demostrado en una extensa publicación de Arndt y Garraty, en la cual el 74% de 126 casos fueron adjudicados a las cefalosporinas.¹

La interacción con los glóbulos rojos puede ser dividida en dos tipos, aquellas que se unen herméticamente y las que no, por lo que se pueden clasificar en dos categorías droga-dependiente y droga-independiente.²

El mecanismo de acción de los anticuerpos dependiente de droga puede deberse a la unión estrecha del fármaco con la membrana eritrocitaria (mecanismo transportador de hapteno), a una unión débil de la droga a la membrana celular con la subsecuente formación de un complejo inmune droga-anti-droga, o a la inducción de un mecanismo de autoinmunidad.²

Los fármacos unidos covalentemente a componentes de la membrana estimulan anticuerpos hapteno-dependientes. Un anticuerpo puede ser evidenciado al realizarse ensayos utilizando glóbulos rojos normales tratados con una droga. El segundo tipo de anticuerpo dependiente de droga se une al eritrocito en presencia de la droga en forma soluble.¹

En los últimos 30 años, el número de drogas que causan este tipo de anemias hemolíticas (DIIHA por sus siglas en inglés) se ha incrementado de 30 fármacos conocidos en 1980, a 71 en 1994, a 108 en el 2007 y actualmente se han descrito 125 drogas.^{2,3} La DIIHA es un evento raro con una incidencia de aproximadamente 1 en 1.000.000 de individuos.^{2,3}

La reactividad del plasma normal, por ejemplo de donadores de sangre, con eritrocitos recubiertos por el fármaco ha sido reportada con penicilina, cefalotina, cefotetan y más recientemente con piperacilina y oxalipitalina.⁵⁻⁹

Reporte de un caso

Un donante de 34 años mostró un control en la prueba de grupo ABO/D positivo (Figura 1) y un rastreo de anticuerpos irregulares positivo en el momento de la donación. La identificación se realizó utilizando la técnica de antiglobulina indirecta utilizando el método de gel de DiaMed (BioRad) de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Las reacciones positivas con todos los glóbulos rojos fueron registradas. Se sospechó la presencia de un anticuerpo contra un antígeno de alta frecuencia debido a la baja reactividad del autocontrol. La prueba de antiglobulina directa realizada en tarjeta de gel aportó un resultado negativo (anti-IgG, anti-IgM, anti-IgA, anti-C3c y anti-C3d) (Figura 2).

Todas las reacciones fueron positivas tanto con el panel corriente como con el panel enzimático (tratamiento con papaína) donde las células están resuspendidas en diluyente 2. Se lavaron las células de ambos paneles de identificación y las selectoras con solución salina al 0,8% y se resuspendieron en esta misma solución pero sin antibióticos. En contraste, no hubo reacción contra estas células. Las células producidas por DiaMed (BioRad) contienen una combinación de los antibióticos trimetoprima y sulfametoxazol.

*Especialidad de Inmunohematología y Banco de Sangre, Sistema de Estudios de Posgrado, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica; cesar.cerdasquesada@ucr.ac.cr.

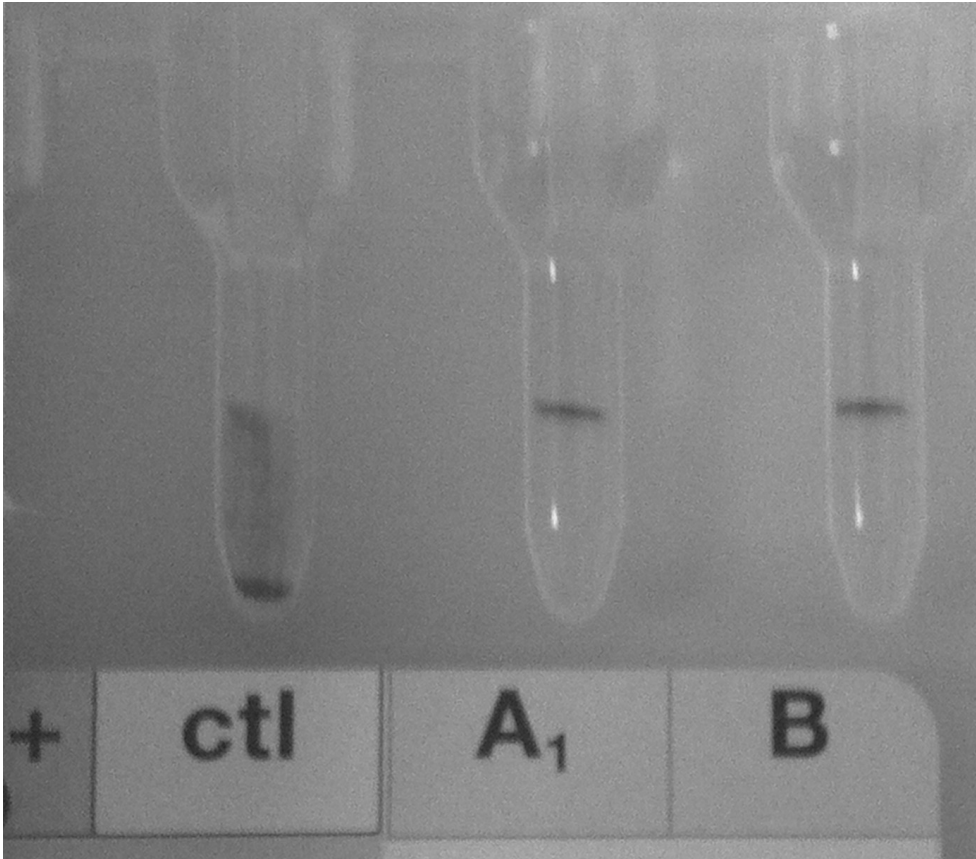


Figura 1. Grupo inverso y control positivo en la tipificación ABO/D, empleando la técnica de aglutinación en gel.

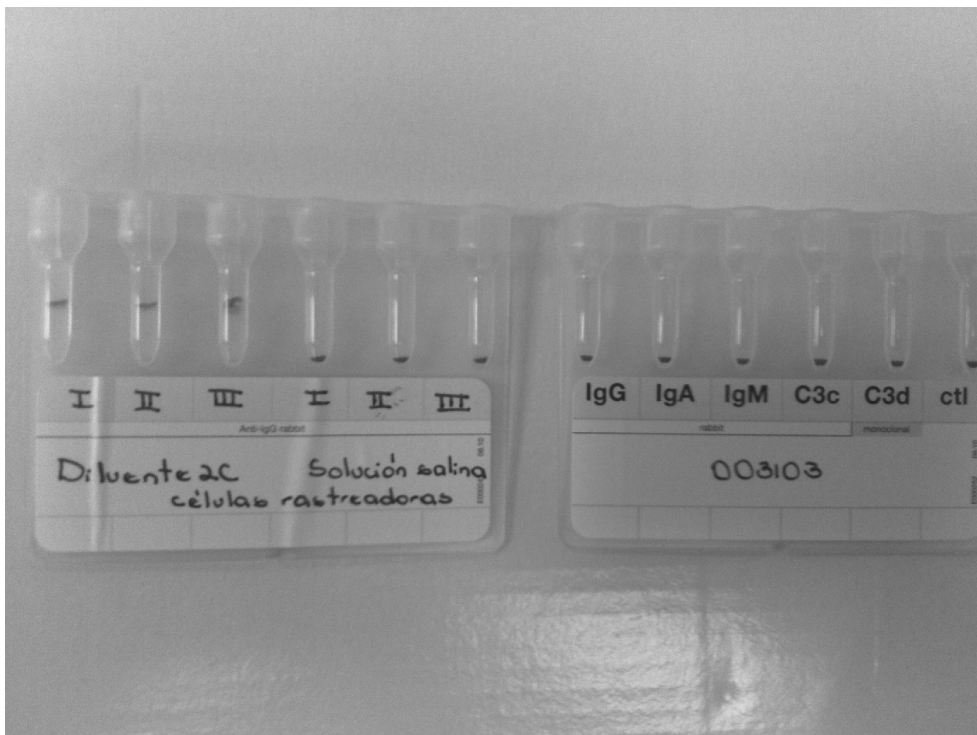


Figura 2. Resultado de la prueba antiglobulínica directa e indirecta en donantes, realizada con técnica de aglutinación en gel.

En términos serológicos, la presencia de anticuerpos contra los antibióticos puede ser evidenciada solamente cuando se utiliza un diluyente que contenga la droga en cuestión. Para determinar si se trataba de estos anticuerpos, se tomaron células de donantes y selectoras, se realizó la suspensión de las mismas en solución salina al 0,8% y se utilizó gentamicina como antibiótico. Al realizar la prueba de antiglobulina directa tanto por la metodología de tubo como por la metodología de gel, los resultados obtenidos fueron negativos (Figura 2).

Discusión

No todas las drogas se unen firmemente a los eritrocitos y si no existe un control positivo, no hay certeza de que la droga este recubriendo los eritrocitos. Analizar en presencia de una solución del fármaco (formalmente llamado método de complejo inmune) es el método más fácil y por el cual la mayoría de las drogas pueden ser detectadas.¹⁰

Se han reportado tres casos de anticuerpos anti cotrimoxazol (trimetoprima/sulfametoxazol) y se ha visto que el rol de los diluyentes para realizar suspensiones de glóbulos rojos cuando una prueba de detección de anticuerpos inicial es positiva está probablemente subregistrada.¹¹ Los diluyentes comerciales contienen diferentes antibióticos como cloranfenicol, sulfato de niacina y gentamicina. La presencia de antibióticos podría llevar a resultados positivos cuando se realiza la identificación de anticuerpos pero solamente cuando se analiza el suero o plasma en presencia del antibiótico dado en el diluyente utilizado. Se ha descrito que los eritrocitos actúan como una superficie que permite que se una la droga² y además, se ha sugerido que los anticuerpos inducidos por drogas podrían reconocer diferentes componentes de la membrana eritrocitaria.^{11,12}

Es importante prestar atención a la resolución de conflictos en el rastreo de anticuerpos irregulares utilizando diferentes técnicas de sensibilidades similares, pruebas de antiglobulina directa y elusiones, adsorciones autólogas, la observación de la ausencia o la presencia de datos clínicos de anemia hemolítica así como tener presente que la respuesta individual hacia un desafío antigénico está gobernada por muchos factores. Además, es importante tomar en cuenta que algunos anticuerpos a químicos presentes en las suspensiones

comerciales de eritrocitos, antiseros comerciales o potenciadores se han documentado con especificidad de grupo sanguíneo por lo que es necesario conocer la formulación de los medios usados en dispositivos médicos para interpretar correctamente los datos serológicos.²

La relevancia clínica de estos anticuerpos puede ser cuestionada e incluso podría tratarse de un hallazgo serológico sin relevancia clínica por lo que la recomendación sería evitar la prescripción de esta antibiotioterapia.² Todo esto enfatiza la importancia de ensayar plasmas normales de pacientes sin anemia hemolítica en paralelo con muestras bajo investigación de DIHA.

Referencias

1. Johnson ST, Fueger JT, Gottschall JL. One center's experience: the serology and drugs associated with drug-induced immune hemolytic anemia- a new paradigm. *Transfusion* 2007;47:697-702.
2. Pham B, Gien D, Bensaad F, Babinet J, Dubeaux I, Rouger P, Le Pennec P. Antibodies to co-trimoxazole (trimethoprim and/or sulfamethoxazole) related to the presence of the drug in a commercial low-ionic-strength solution. *Transfusion* 2012;52:844-8.
3. Martinengo M, Ardenghi DF, Tripodi G, Reali G. The first case of drug-induced immune hemolytic anemia due to hydrocortisone. *Transfusion* 2008;48:1925-9.
4. Garraty G. Immune hemolytic anemia associated with drug therapy. *Blood Rev* 2010;24:143-50.
5. Leger RM, Garratty G. Antibodies to oxaliplatin, a chemotherapeutic, are found in plasma of healthy donors. *Transfusion* 2011;51:1740-44.
6. Arndt P, Garratty G. Is severe immune hemolytic anemia, following a single dose of cefotetan, associated with the presence of naturally-occurring anti-cefotetan? *Transfusion* 2001;41 Suppl:24S.
7. Leger RM, Arndt PA, Garratty G. Serological Studies of piperacillin antibodies. *Transfusion* 2008;48:2429-34.
8. Petz LD, Garratty G. Immune hemolytic anemias. 2nd ed. Philadelphia (PA):Churchill Livingstone;2004.
9. Roback JD, Coombs M, Grossman B, Hillyer CD. 16th ed. AABB Technical Manual:2008.
10. Leger, G. Comunicaciones personales.
11. Garratty G. In Vitro reactions with red blood cells that are not due to blood Group antibodies: a review. *Immunohematol* 1998;14:1-11.
12. Habibi B, Bastay R, Chodez S, Prunat A. Thiopental-related immune hemolytic anemia and renal failure. Specific involvement of red-cell antigen I. *N Engl J Med* 1985;312:353-5



Presentación de casos

Crioaglutininas en donantes: formación de agregados en la unidad de glóbulos rojos desplasmatisados y en la guía para transfusión

Dr. Cerdas-Quesada, César*

Introducción

Las crioaglutininas (CAs) son casi siempre inmunoglobulinas de clase IgM y dirigidas contra una variedad de antígenos que se unen a los glóbulos rojos a temperaturas que van de los 4 a los 18 °C preferiblemente y que pueden o no producir hemólisis. Todos los antígenos diana son determinantes de carbohidratos, asociados a lípidos y carbohidratos en la superficie de los eritrocitos.^{1,2} Las CAs no específicas fueron publicadas por primera vez en 1924 por Mino. Las especificidades más comunes son anti-I, anti-i, anti-j (I+i) y anti-Pr, así como cinco receptores que contienen ácido siálico (Sia-b1, Sia-11, Sia-1b, Sa y Lud).¹

Virtualmente los sueros de todos los individuos sanos contienen bajos títulos de CAs y en algunos casos pueden aparecer en infecciones, pero al ser policlonales son usualmente benignas. Contrariamente las monoclonales son generalmente patogénicas y pueden ser el prelude de un linfoma. Estas CAs tienen un título entre 1000 y 16000 e incluso más alto en solución salina a 4 °C (normal <64), y causan *in vitro* aglutinación de sangre anticoagulada a temperatura ambiente que puede ser evidenciada a simple vista.³

La identificación de las CAs se basa en las pruebas de titulación contra glóbulos rojos de adultos, cordón y de ser posible glóbulos rojos de adultos de grupo i. Además, se pueden identificar por el efecto de la papaína y la neuroaminidasa.^{1,4}

Informe de un caso

Una unidad de donación alogeneica O, D+ prove-

niente de un donante de primera vez con investigación de anticuerpos irregulares negativa, fenotipo Ccee y prueba de compatibilidad mayor negativa fue liberada para transfusión. La unidad se almacena en refrigeración en el servicio mientras se prepara al paciente para la transfusión. El donante será reevaluado en su próxima donación.

Se notó que la unidad no circulaba normalmente por la guía. Se observó además, la presencia de un coágulo en la guía por lo que se decidió devolverla al Banco de Sangre (Figura 1).

En el Banco de Sangre se controló visualmente la unidad y se observó que tenía numerosos agregados grandes y pequeños de glóbulos rojos. La unidad se colocó en cuarentena mientras se realizaban los protocolos de investigación.

Materiales y métodos

Se descongeló la muestra del donante de la seroteca y además se utilizó una muestra de plasma de la unidad para realizar los estudios en paralelo.

Se realizó una prueba de antiglobulina directa (PAD) con tarjetas de gel DC-Screening II (IgG, C3d, ctl BioRad). Como el estudio resultó positivo fue analizado posteriormente con la tarjeta de gel DC-Screening I (IgG, IgA, IgM, C3c, C3d, ctl BioRad). Las pruebas en gel fueron realizadas de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Brevemente, 50 µL de una suspensión de glóbulos rojos al 0,8% en LISS (ID-Diluent 2) fue agregado a cada microtubo de la tarjeta. Las tarjetas fueron centrifugadas a 1030 rpm por 10 minutos usando la ID-Centrifuge 12SII. Las reacciones de aglutinación se cla-

*Especialidad de Inmunohematología y Banco de Sangre, Sistema de Estudios de Posgrado, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica; cesar.cerdasquesada@ucr.ac.cr. - cesar.cerdas@hotmail.com.

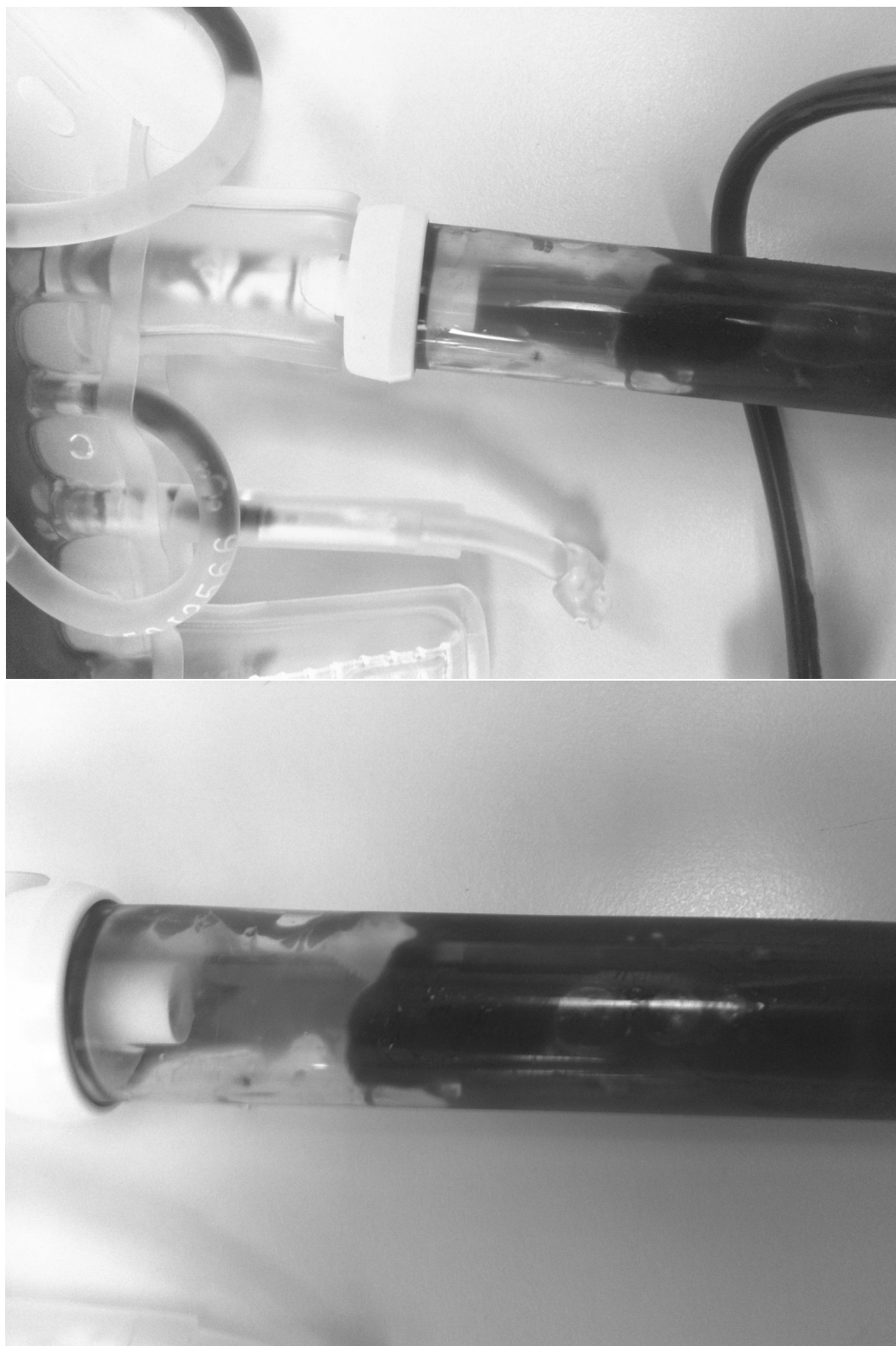


Figura 1. Presencia de un coágulo en la guía utilizada para transfundir la unidad de glóbulos rojos desplasmatizados.

sificaron como fuertemente positivas (4+ y 3+), moderadamente positivas (2+ y 1+) y positivo débil (w+).⁵

Se realizó la prueba de investigación de anticuerpos irregulares con técnica de aglutinación en gel (DiaMed, BioRad) con células testigos I, II y III así como panel identificador convencional y el de células tratadas con enzimas (tratamiento con papaína DiaMed) según lo indicaba el fabricante y siguiendo el método descrito anteriormente.

Para excluir la presencia de aloanticuerpos clínicamente significativos se llevaron a cabo estudios de adsorción.

De ser necesario, se realizarían eluidos con la técnica de elución ácida DiaCidel (Diamed, Switzerland, BioRad) según las instrucciones del fabricante.

Los estudios de CAs se realizaron según lo especificado en estudios anteriores. Brevemente, se realizaron 3 series de 12 diluciones dobles del plasma con un volumen final de 1 mL; una serie de glóbulos rojos O adultos al 3%, una serie de glóbulos rojos O de neonato al 3% y una serie de glóbulos rojos al 3% del mismo grupo del donante. Posteriormente, se enfrentaron con 100 µL de las diluciones de plasma más 50 µL de las suspensiones de glóbulos rojos de adulto, neonato y donantes. Se incuban a 4 °C y se realizan las lecturas a la hora y a las 24 horas. Se consideró positivo sólo a las intensidades de aglutinación de 4+.

Alternativamente, se realizó tinción de Gram al plasma de la unidad y se cultivó la unidad en botellas BactAlert que se incubaron por 7 días.

Resultados

La prueba de antiglobulina directa fue negativa mientras que la prueba de antiglobulina indirecta a 4 °C, incluyendo el autocontrol resultó positiva, indicando la presencia de CAs. Los estudios de adsorción no demostraron la presencia de aloanticuerpos enmascarados.

En el estudio de CAs se obtuvieron reacciones típicas para un anti-I.

Las tinciones y los cultivos fueron informados como negativos.

La unidad fue descartada.

Discusión y conclusiones

Las CAs interfieren con la tipificación ABO/Rh, así como llevan a resultados positivos indeseables en la

investigación de anticuerpos irregulares y pueden enmascarar la presencia de otros anticuerpos concomitantes así como aloanticuerpos clínicamente significativos. En el caso de anti-M, -P₁ o -Le^a rara vez causan destrucción acelerada o incompatibilidad en las pruebas cruzadas. Cuando los métodos incluyen incubaciones a temperatura ambiente y finalización en medio antiglobulínico empleando sueros poliespecíficos, la razón de obtener resultados positivos (debido principalmente a crioaglutininas y a aloaglutininas) es de 1,41% mientras que las metodologías que omiten la fase de incubación a temperatura ambiente y el uso de antisuero anti-IgG reduce este porcentaje a 0,1%.⁶ Es por esta probabilidad que se pueden encontrar unidades con este tipo de agregados. Hay que tomar en cuenta que se debe de contar con un protocolo para dilucidar este tipo de situaciones ya que también se puede presentar esta situación cuando hay contaminación bacteriana o por volúmenes colectados que exceden la capacidad del anticoagulante así como la falta de homogenización durante la recolección.

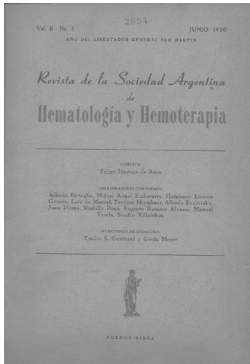
Es por todo lo anterior que la inspección visual de las unidades es un paso importante en la seguridad transfusional. Es importante tomar en cuenta aspectos como coloración, coágulos visibles, hemólisis, turbidez, alteraciones en el plasma (hiperbilirrubinemia, hiperlipidemia); así como la integridad de la bolsa.^{7,8}

Referencias

1. Janvier D, Lam Y, Galcier L, Bierling P. A new cold autoagglutinin specificity: the third external loop of band 3. *Transfusion* 2010;50:47-52.
2. Roelcke D. Cold agglutination. *Transfus Med Rev* 1989;3:140-66.
3. Garratty G, Petz L, Hoops J. The correlation of cold agglutinin titrations in saline and albúmina with hemolytic anemia. *Br J Haemat* 1977;35:587-595.
4. Roelcke D, Kreft H, Hack H, Stevenson F. Anti-j: human cold agglutinins recognizing linear and branched type 2 chains. *Vox Sang* 1994;67:216-21.
5. Marsh WL. Scoring of hemagglutination reactions. *Transfusion* 1972;12:352-3.
6. Judd W. How I manage cold agglutinins. *Transfusion* 2006;46:324-326.
7. Pesek G, Porter L, Young J, Fox M. Visual inspection: an important step in transfusion safety. *Transfusion* 2010;50:752.
8. Bedi R, Basu S, Kaur P, Chattopadhyaya A. Visual inspection of blood units, a necessary practice at blood centres. *Transfusion* 2005;45:459.



Antecedentes históricos de nuestra Revista



La exanguinotransfusión en la enfermedad hemolítica del recién nacido

por los doctores
Stiefel, Otto M.; Pereira, Julio C.;
Osácar, Ernesto M.; Massa Raúl G.
(Córdoba)

La enfermedad hemolítica (EH) del recién nacido plantea, en los casos de cierta gravedad, problemas diagnósticos y terapéuticos que deben ser analizados y resueltos en un plazo perentorio.

Cuando se trata del hijo de una mujer estudiada previamente, suele ofrecer el caso grandes posibilidades de ser solucionado en forma, satisfactoria, sin premura ni improvisaciones, pero todavía no se ha generalizado el criterio de que toda mujer embarazada debe ser estudiada integralmente en sus características sanguíneas, sobre, todo cuando los antecedentes o la clínica indican la posibilidad de un conflicto materno-fetal.

La omisión total de este requisito es cada día menos frecuente, pero aún es corriente que se solicite al laboratorista o al transfusor una sola determinación: la del factor Rh de la futura madre. Si bien es cierto que los casos más frecuentes son los de isoimmunización de la madre por los aglutinógenos fetales del sistema Rh-Hr y de éstos, muy especialmente por el D o Rh₀, no deben ser olvidados los aglutinógenos A y B como posibles determinantes de la EH.

En nuestro país, ha sido bien puntualizada -por Etcheverry¹² y Peralta Ramos, y Etcheverry²⁰, la necesidad de realizar las investigaciones sanguíneas en la forma más completa posible y en ambos esposos, pero hasta tanto se llegue a ello nos veremos con cierta frecuencia en la necesidad de diagnosticar y tratar recién nacidos de madres cuyas características sanguíneas

ignoramos en absoluto, encontrándonos con una ictericia que data de muchas horas o varios días, primer síntoma de un cuadro serio y avanzado de EH en niños que se agravan, mientras se completa el diagnóstico, obligándonos a iniciar un tratamiento con todos los inconvenientes del caso apremiante.

No es nuestro propósito abordar en este trabajo, los interesantísimos problemas relativos a la patogenia y a la posible prevención de la EH del recién nacido, sino relatar los pocos casos de nuestra clientela privada en que hemos practicado la Exanguino-Transfusión (ET), describiendo la técnica empleada -que bien sabemos no tiene verdadera originalidad- y comunicar los resultados obtenidos.

Las dificultades técnicas a veces grandes, la necesidad de practicarla con la intervención de un equipo, las varias horas que demanda su ejecución completa y la cantidad de sangre rh negativo generalmente necesaria, hacen de la ET una operación seria y laboriosa que debe ser realizada sólo dentro de indicaciones y técnicas precisas. Todos estos hechos han dado origen a que investigadores de gran autoridad y experiencia, estén empeñados en la búsqueda de métodos menos laboriosos para el tratamiento de la EH.

No cabe duda que se ha de llegar a obtener algún tratamiento seguro y simple, capaz de salvar la vida de estos enfermitos y evitar las secuelas propias de la terapéutica tardía o insuficiente, sea conjurando la isoimmunización de la madre, o anulándola después de

Comunicación presentada a la Sociedad Argentina de Hematología y Hemoterapia en la sesión del día 19 de Abril de 1951.

producida, o bien neutralizando sus efectos en el organismo del niño; pero hasta encontrar tal solución será necesario, en muchos casos, recurrir a la ET como el método terapéutico más eficiente para tratar estos recién nacidos que antes se perdían irremisiblemente o sobrevivían con serias secuelas neurológicas.

Es probable que alguna vez hayamos practicado una ET sin ser «absolutamente indispensable» para salvar a un niño y evitar las secuelas de la EH, pero estamos seguros de no haberle hecho correr mayores riesgos. En cambio, reconocemos habernos engañado, creyendo benigno algún caso que después resultó grave, pecando por insuficiencia o retardo en el tratamiento instituido.

I TECNICA

Nos ha parecido conveniente describir, con cierto detalle, la técnica que hemos adoptado para la transfusión y la sangría, porque en la mayoría de las publicaciones consultadas no se las describe sino a grandes rasgos y quien se vea precisado a practicar una ET deberá imaginar o idear detalles en los primeros casos. Wallerstein²⁹ practica la transfusión en venas epicraneales o colocando una cánula en alguna otra vena periférica, y la extracción con jeringa y aguja especial por el seno longitudinal. Wiener y col.³³ transfunden con cánula por la safena interna a nivel del maléolo tibial y sangran por la arteria radial. Diamond⁹ practica transfusión y sangría con un catéter especial, introducido por la vena umbilical; esta técnica está muy bien detallada en varios trabajos y es quizás la más difundida en la actualidad. Pinkus²² investiga la porción intraparietal de la vena umbilical y cateteriza hasta vena cava; esto sería factible aún varios días después del parto. Arnold y Alford³ denudan la safena interna por debajo del pliegue inguinal e introducen, hasta la vena cava inferior, un catéter por el que extraen y transfunden.

Nosotros practicamos la transfusión, independientemente de la sangría.

1. TRANSFUSION. - Se comienza por colocar la mano del niño, con la palma hacia abajo, sobre una tabla delgada de cuatro a cinco centímetros de ancho por treinta a cuarenta de largo y cuyo extremo superior, rebasando el hombro, queda colocado debajo de la almohadilla en que descansa la cabeza del paciente. La fijación de la mano en esa posición, se consigue con bandas angostas de esparadrapo colocadas circularmente, desde las articulaciones metacarpofalángicas hacia los extremos de los dedos. El hueso de la palma se rellena con un trozo de algodón con el objeto de poner tensa la piel del dorso; una bandeleta de goma, mejor que un tubo, se coloca inmediatamente por encima de la articulación de la muñeca.

Se evita la tendencia a la flexión de ésta, propia del recién nacido, con una banda más ancha de esparadrapo, aplicada circularmente y haciendo tracción hacia

arriba de la piel del dorso del antebrazo. Quedan así, en un solo plano, en extensión y fijos a la tabla, el dorso de la mano y el de la muñeca. Por ser la tabla más ancha que el pequeño antebrazo, la banda circular que hace tracción hacia arriba, sólo se adhiere al dorso del mismo, pasando desde allí como puente a los bordes de la tabla y no dificulta la circulación venosa una vez retirada la pinza con que se ajusta transitoriamente la bandeleta de goma.

Con una jeringa pequeña, o de pico excéntrico, cargada con 1 cc. más o menos de sol. fisiológica y provista de aguja de 25 a 30 mm. de longitud y 8/10 de calibre, bisel corto, se canaliza una vena del dorso de la mano partiendo si es posible desde la proximidad de los nudillos.

Una vez suelta la ligadura, se verifica la correcta posición de la aguja, inyectando la solución; se toma el pabellón de la aguja entre el pulgar y el índice, se obtura el extremo comprimiendo suavemente la piel sobre el bisel, que se localiza fácilmente con el pulpejo del dedo anular o medio, evitando así que refluya sangre pura, coagulable, por la aguja, lo que asegura su buena permeabilidad durante horas. Al retirar la jeringa, se conecta el equipo de goteo y se fija la aguja, el intermediario y parte del tubo de goma, con otras bandas angostas de esparadrapo, al dorso de la mano y a la tabla. (Ver figura 1)

El tubo de goteo debe tener una longitud aproximada de 1,50 metros para permitir elevar el frasco hasta una altura que asegure el paso de la sangre venciendo,

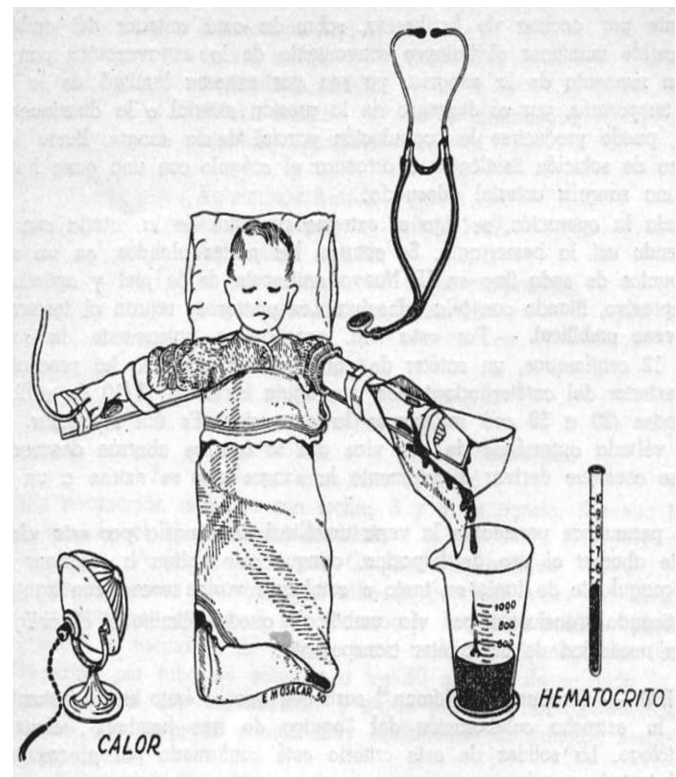


Figura 1.

por gravedad, la resistencia que podría ofrecer el pequeño calibre de la vena. Conviene que el frasco tenga un tubo de entrada de aire cuyo extremo exterior, mejor si es acodado, rebase 2 ó 3 centímetros el tapón y permita así conectar una pera de Richardson con filtro de aire, para dar presión al sistema en caso de necesidad. La sangre se inyecta a la temperatura ambiente.

Una instalación similar puede hacerse para la transfusión en la safena interna a nivel del maléolo tibial o en las venas del dorso del pie cuando las de la mano no tengan suficiente calibre. Nos agrada más el miembro superior porque permite una mayor fijeza en la instalación y una posición menos forzada para el enfermo.

2. SANGRIA. a) **Por arteria radial.** - En la mayoría de nuestros casos hemos utilizado la arteria radial a nivel del canal del pulso para practicar la sangría. Fijamos el miembro superior elegido, sobre una tabla delicada mediante bandas de esparadrapo, colocando el antebrazo y la mano, en actitud de supinación y extensión. Es conveniente hiperextender ligeramente la muñeca con un doblez de gasa introducido entre el dorso de ésta y la tabla. Efectuamos la antisepsia del antebrazo y la mano, rodeando el conjunto antebrazo-mano-torzo con una lámina de celofán o hule esterilizado, fijándola por encima de la muñeca, también con tela adhesiva. Formamos así un canal con el objeto de derivar la sangre, una vez practicada la arteriotomía, hacia un recipiente graduado.

A nivel del canal del pulso practicamos una incisión transversal en el pliegue medio superior de la muñeca, de 10 a 15 mm. de longitud. Incidimos la piel y el tejido celular subcutáneo, pinzando en forma temporaria con hemostáticas delicadas, algún vaso pequeño que sangre. Luego seccionamos la aponeurosis entre el supinador largo por fuera y el palmar mayor por dentro, continuando la exploración de la arteria radial por disección roma. En general, es posible asegurarse de su localización, por palpación de sus latidos. La disección debe ser cuidadosa y lo más circunscripta posible, para evitar lesionar estructuras vecinas.

Descubierta la arteria, se exterioriza por un gancho delicado y se enlaza con dos hebras de seda fina. Se liga la arteria con la hebra distal, conservando los chicotes para tracción; con la hebra proximal, se tracciona para exteriorizar convenientemente el vaso y practicar, con una tijera delicada y puntiaguda, un corte en pico de flauta (arteriotomía parcial). Inmediatamente observaremos la salida de sangre arterial con su color y ritmo característicos. (Ver figura 1)

La sangre arterial se controla fácilmente, mediante la compresión digital de la radial inmediatamente por encima de la herida, sobre la cara anterior del antebrazo. En esta forma, es posible mantener el balance conveniente de la extravasación con la transfusión.

En algún momento de la sangría, ya sea por extrema lentitud de la misma, por su interrupción temporaria, por el descenso de la presión arterial o la disminución en el tenor de heparina, puede producirse la coagula-

ción parcial de la sangre. Basta lavar la herida con un chorro de solución fisiológica o arrastrar el coágulo con una gasa humedecida, para restablecer una sangría arterial adecuada.

Completada la operación, se liga el extremo proximal de la arteria con una hebra de seda, deteniendo así la hemorragia. Se suturan las partes blandas, en un solo plano, con dos o tres puntos de seda fina en U. Nueva antisepsia de la piel y apósito de gasa suavemente compresivo, fijando con tela adhesiva. Los puntos se retiran al tercero o cuarto día.

b) Por vena umbilical. - Por esta vía, practicamos únicamente la sangría, introduciendo 10 a 12 centímetros, un catéter de polietileno tal como lo ha preconizado Diamond. Al extremo exterior del catéter adaptamos una aguja corta de 15/10 de calibre y mediante jeringas grandes (20 a 50 cc.) realizamos la extracción. Es útil intercalar, entre aguja y jeringa, una válvula automática de tres vías con lo que se ahorran desconexiones y reconexiones y se consigue derivar directamente la sangre que se extrae a un recipiente graduado.

Mientras permanece permeable la vena umbilical, la sangría por esta vía es el método ideal; permite ahorrar el uso de heparina, aunque esto obliga a enjuagar la jeringa con solución anticoagulante de tanto en tanto o cambiarla varias veces, con aguja inclusive.

No practicando transfusión por vía umbilical, queda eliminado el peligro de embolia gaseosa y la necesidad de un catéter transparente.

3. EQUIPO. - Ginsberg y Feldman¹¹ sostienen que el éxito en el tratamiento de la EH depende de la estrecha colaboración del «equipo de tres hombres», obstetra, pediatra e inmunohematólogo. La solidez de este criterio está confirmado por el resultado óptimo de los casos así tratados.

Hemos constituido nuestro equipo con hematólogo-transfusores y obstetra, recurriendo al cirujano habituado a la cirugía infantil, cuando necesitamos practicar arteriotomía. Participa un pediatra desde el comienzo, cuando el caso no es inicialmente estudiado y dirigido por el obstetra durante el embarazo y el parto, o después para seguir controlando al niño.

El estudio de conjunto y la valoración de los antecedentes, signos y síntomas pre y post natales, han de conducir a la indicación terapéutica.

II CASOS TRATADOS Orden cronológico

CASO 1. - Niño O.C. - **Antecedentes:** La madre nunca ha recibido transfusiones ni otra hemoterapia. Embarazo extrauterino en 1947 curado sin intervención quirúrgica. Durante su segundo embarazo, se practican las siguientes investigaciones:

Agosto 10/1948.

Esposa: grupo O rh negativo

Esposo: grupo A Rh positivo

Aglutininas Anti-Rh:

1. en sol. salina: no se comprueban
2. en plasma humano: no se comprueban

Agosto 28. - Parto normal a término; varón grupo O Rh positivo. A las 48 horas presenta moderada ictericia y se le practica transfusión de 100 cc. de sangre O rh negativo, ligeramente concentrada, más 50 cc. de sol. salina isotónica. Al día siguiente: GR 5,57; Hb 17 grs.; Hematócrito 64 %; algunos rojos nucleados, policromatofilia, anisocitosis y poiquilocitosis. El niño tiene actualmente más de dos años y se ha desarrollado normalmente. La madre recibió una transfusión de 300 cc. de sangre O rh negativo post parto. Durante el embarazo siguiente, cuyo término se calcula para fines de Ag. de 1949, se practican las determinaciones siguientes:

Abril 4.

Aglutininas Anti-Rh:

1. en sol. salina: no se comprueban
2. en plasma humano: no se comprueban

Junio 10.

Aglutininas Anti-A:

en sol. salina: título 1792

Aglutininas Anti-Rh:

1. en sol. salina: no se comprueban
2. en plasma humano: título 14

Julio 8.

Aglutininas Anti-A:

en sol. salina: título 1792

Aglutininas Anti-Rh:

1. en sol. salina: no se comprueban
2. en plasma humano: título 28

Julio 29.

Aglutininas Anti-A:

en sol. salina: título 1792

Aglutininas Anti-Rh:

1. en sol. salina: no se comprueban
2. en plasma humano: título 56

Se practica vacunación antitífica con fechas 3 y 8 de agosto. Resuelta la inducción del parto éste se produce el 11 de agosto de 1949.

Varón de 3.250 grs. Grupo O Rh positivo

Antes de las dos horas de nacido el niño se punciona vena del dorso de mano con aguja y jeringa secas, se extraen 3 cc. de sangre: hematócrito 60 %, plasma francamente icterico; se conecta la venoclisis de sangre total, fresca, O rh negativo; luego se inyectan 10 mg de heparina por tubo de goteo y a los 50 minutos de iniciada la transfusión, se desnuda la arteria radial del otro miembro y se le introduce un catéter delgado de polietileno a través del que surge la sangre muy lentamente; 45 minutos después se repite la inyección de heparina.

Cuando se han transfundido 250 cc. de sangre y

extraído 150 con gran lentitud y dificultad se abandona la arteria radial ligándola y, mediante otro catéter de unos 12 centímetros de longitud, se canaliza la vena umbilical y se continúa la extracción con jeringa hasta completar la cantidad de 525 cc. La transfusión continuó hasta un total de 675 cc. – o sea 150 cc. más que lo extraído; antes de retirar la aguja se inyecta vitamina K. Toda esta laboriosa operación ha durado casi 10 horas, pero el niño la ha tolerado muy bien. Penicilinoterapia.

Agosto 14. - GR 5,17. No tuvo ictericia en ningún momento. Actualmente tiene más de un año de edad y su desarrollo es normal.

COMENTARIO. La curva ascendente de los anticuerpos Rh de la madre, monovalentes, y la fijeza del título de las aglutininas anti-A (en aquella época sólo empleábamos la sol. salina para titular las aglutininas anti-A y anti-B) hacían suponer un feto Rh positivo y posiblemente del grupo O. Optamos por la inducción del parto 15 días antes del término, como es nuestro criterio en estos casos y decidimos la inmediata ET, después de comprobar que el niño era Rh positivo; por los antecedentes del primer niño y por el ascenso de los anticuerpos maternos. Nada fué improvisado y sólo tuvimos inconvenientes en la sangría que creíamos poder realizar cateterizando la arteria radial; no lo hemos intentado en los casos posteriores pues tenemos la impresión de que el catéter dificulta la sangría, reduciendo considerablemente la luz vascular.

La isoimmunización de la madre, ya manifestada en el primer hijo, nos sugirió que podría haber sido influida por la reabsorción del huevo extrauterino no extirpado.

CASO 2. - Niña S.M.Ñ.D. - El 12 de agosto de 1949, pocas horas después de la laboriosa ET del caso precedente, se nos llamó con urgencia por una obstetra para mostrarnos una niña nacida 24 horas antes, de parto normal a término, que presentaba una intensa ictericia y gran desasosiego. Comprobamos que era grupo A Rh positivo; la madre A rh negativo y el padre O Rh positivo. Esta niña era el tercer hijo del matrimonio; el segundo, nacido tres años antes, tuvo ictericia.

El estado sumamente grave de la criatura, la intensa ictericia y los trastornos respiratorios, nos hacían, creer en la inutilidad de cualquier terapéutica; pero de común acuerdo con el pediatra, resolvimos practicar de inmediato la ET.

Se inició el goteo con sangre total fresca A rh negativo en vena del dorso de la mano derecha y poco después la sangría por arteriotomía radial izquierda. Se transfundieron 475 cc, y se extrajeron 400 cc. Penicilinoterapia.

Agosto 15 - GR. 4,17; Hb 12,5; GB 12.700; dos normoblastos por cada 100 leucocitos.

Agosto 18. - GR 3,50; Hb 11; GB 13.800; tres normoblastos por cada 100 leucocitos, Ese día practicamos una transfusión de 80 cc. de sangre total A rh negativa.

Agosto 21. - GR 4,75; Hb 12; GB 16.200. La niña sigue bien pero persiste una ligera ictericia.

Septiembre 1. - Ha desaparecido totalmente la ictericia, pero se la nota francamente anémica. Transfusión de 100 cc. de sangre A rh negativo, concentrada. Después de esta transfusión la niña siguió perfectamente.

Septiembre 19. - GR 3,85; Hb 10; GB 5.150; anisocitosis y policromatofilia. No se practicó otra transfusión por no residir los padres en esta ciudad. Continuó bajo los cuidados del pediatra.

A los 50 días del parto se titularon las aglutininas Anti-Rh de la madre:

1. en sol. salina: título 224
2. en plasma humano: título 448

Los hijos anteriores, de 6 y 3 años, son ambos A Rh positivo.

Nuestra paciente tiene actualmente un buen desarrollo físico. Las pruebas mentales practicadas al cumplir un año fueron normales.

COMENTARIO. Indudablemente, dada la gravedad del caso y según la experiencia de otros autores, la ET fue insuficiente en cuanto a las cantidades. El proceso hemolítico había sido atenuado en gran parte y salvada la vida de la enferma, pero la anemia manifestada en los días siguientes requirió dos nuevas transfusiones que quizás no hubieran sido necesarias con una mayor renovación sanguínea y con más diferencia a favor de la transfundida. Este caso nos parece demostrativo de la eficacia de la ET para evitar las secuelas de la EH.

CASO 3. - Niña M. del C.U. - Febrero 23 de 1950. Dos horas después de nacer esta criatura, nos llama la obstetra porque la ha notado ictericia al desaparecer la cianosis del primer momento,

Madre: A rh negativo

Padre: O Rh positivo

Enferma: O Rh positivo

Es la segunda hija; la primera nacida en noviembre de 1947, presentó ictericia al segundo día y mejoró sin tratamiento. La madre ha recibido varias inyecciones de sangre A Rh positivo a la edad de 7 años.

Resolvimos practicar la ET y la iniciamos cuando la niña tenía 5 horas de vida y ya fuertemente ictericia.

Primer frasco 300 cc. de sangre total O rh negativo más 100 cc. de solución salina isotónica. La toma de sangre efectuada al instalar la transfusión dió un hematocrito de 29 % y un plasma fuertemente icterico. A los 20 minutos se inicia la sangría por la arteria radial y continúa manteniendo una diferencia de 100 cc. a favor de la transfusión. Una muestra de la sangre que se está extrayendo cuando termina el primer frasco, revela un hematocrito de 29% y un plasma menos icterico que el anterior; otra, cuando se han extraído 425 cc. y transfundido 525 cc. indica nueva disminución de la ictericia y hematocrito de 37%.

En el término de cuatro horas y media se extrajeron 500 cc. y se continuó la transfusión hasta un total de 700 cc. (622 de sangre y 100 de sol. salina) Heparina inyectada 25 mgs.

Penicilinoterapia.

Febrero 24. - La niña está muy bien; la ictericia ha disminuido.

Febrero 25. - GR 4,96; Hb 16,5; GB 13.000; gran cantidad de rojos nucleados en distintas fases de evolución y eritroblastos: 20 por cada 100 leucocitos; abundantes granulocitos juveniles

Febrero 26. - Sigue perfectamente; GR 5,68; en el frotis, regular cantidad de eritroblastos nucleados en la última fase; 5 eritroblastos por cada 100 leucocitos. No se observan granulocitos juveniles.

Agglutininas Anti-Rh de la madre:

En la sangre: 1. en sol. salina: título 14

2. en plasma humano: título 112

En la leche: no se comprueban.

Marzo 9. - GR 5,20; Hb 15; Hematócrito 52%; GB 6.500; color del plasma: muy levemente icterico.

Abril 6.

Agglutininas Anti-Rh en la sangre de la madre:

1. en sol. salina: título 14

2. en plasma humano: título 224

La primera hija de este matrimonio es A Rh positivo.

COMENTARIO. Se trataba de un caso grave de EH del recién nacido; así lo consideramos desde el primer momento por la precocidad de la ictericia y por los antecedentes de isoinmunización de la madre por el primer embarazo y la hemoterapia recibida en la infancia. Tenemos la convicción que una demora en la ET hubiera sido de serias consecuencias para esta enferma. A los ocho meses tiene aspecto normal.

Caso 4. - Niño H.M.M. — Nacido en un pueblo del interior de la provincia, el día 23 de febrero de 1950, a las 6,30 horas; parto normal a término; peso: 3.250 grs. Nos lo envía un colega para su estudio, porque presenta ictericia desde el segundo día de vida; vemos al niño el 28 por la tarde; la ictericia ha seguido en aumento y desde el día anterior acusa marcada adinamia y trastornos respiratorios; por tres veces se le ha inyectado coramina.

Por punción venosa, extraemos sangre de ambos padres y del paciente.

Madre: A rh negativo

Padre: A Rh positivo

Niño: O Rh positivo;

GR 3,03 Hb 13,8; Hematocrito 35 %; plasma fuertemente icterico; GB 14.200. Es el segundo hijo de este matrimonio.

Por los días transcurridos, nos pareció que el caso no era grave y resolvimos practicarle una transfusión de sangre O rh negativo. Al instalarla en vena del dorso de la mano derecha retiramos una muestra de sangre, que una vez oxalata y al observarla en el tubo y en porta-objeto, mostraba aglutinación espontánea, más notable al agregarle una gota de plasma normal. Este hecho nos decidió a retirar momentáneamente el frasco de sangre y con 100 cc. de sol. salina isotónica, mas 5 mgs, de heparina, practicando simultáneamente una

extracción de 60 cc. de la vena del pliegue del codo del otro miembro, con jeringa y aguja de 10/10. Continuamos con el resto de la sangre O rh negativo que disponíamos en ese momento: 120 cc.

Tres días después, el niño tenía buen aspecto, con la ictericia claramente disminuida.

Hb 13; Hematócrito 42 %; color del plasma; icterico; GB 9.900.

Aglutininas Anti-Rh de la madre:

1. en sol. salina: título 14

2. en plasma humano: título 112

Marzo 13. - El niño ha seguido bien, pero estos últimos días está más pálido y por

ese motivo nos lo traen. GB 2,68; Hb 8; Hematócrito 26 %; plasma: levemente icterico. Se le practica una transfusión de 100 cc. de sangre concentrada O rh negativo. Desde entonces el niño ha seguido bien.

COMENTARIO. Este caso puede catalogarse, sin lugar a dudas, como benigno; fué tratado realizando una pequeña renovación de sangre; la intercalación de solución fisiológica, para realizar la sangría, nos permitió reservar la poca sangre de que disponíamos, para ser transfundida a último momento y corregir en parte la anemia. Una transfusión de glóbulos sedimentados hubiera dado quizás el mismo resultado.

CASO 5. - Niño O. A. F. B. - **Antecedentes:** madre casada en marzo de 1945. Nunca recibió transfusiones ni inyecciones de sangre.

Primer embarazo: parto normal y a término en diciembre de 1945; niño vive sano (no ha sido estudiado).

Segundo embarazo: parto espontáneo en marzo de 1947; prematuro de 8 meses, fallece a las 24 horas; se cree fue un derrame meníngeo.

Tercer embarazo: en 1948, nació prematuro de 7 y medio meses de parto espontáneo normal; pesaba 2.700 gramos; estuvo pálido, icterico e inapetente; después decae bruscamente y fallece a los 5 días. Era grupo A Rh positivo. Fue estudiado entonces el matrimonio: ambos A Rh positivos y no se comprobaron aglutininas Anti-Rh ni anticuerpos bloqueadores.

Cuarto embarazo: es el del caso actual.

Marzo 14/1950. - Nuevo estudio:

1. Esposa: A Rh₁ o CDe

2. Esposo: A Rh₀ ó CDe

Suero de (1) más glóbulos de (2):

a en solución salina: no aglutina

b en suero humano: no aglutina

Conclusiones: 1. - No existe entre las sangres (1) y (2) incompatibilidad por los factores A-B-O y Rh.

2. - En la fecha no se demuestran, en el suero de (1) anticuerpos aglutinantes completos o incompletos para los glóbulos de (2).

3. - En relación con el problema clínico que se investiga, estos resultados permiten excluir a los factores A-B-O y Rh como posibles causantes de los trastornos de la gestación.

Abril 20/1950. - A las 22 horas se produce el parto

normal, casi a término. Varón de 3.150 gramos que grita y respira bien al nacer; no hay esplenomegalia; buen estado general. Se toma sangre del cordón umbilical: Grupo A Rh positivo; GR 4,80; Hb 12,5; Hematócrito 52 %; color del plasma levemente icterico; GR 5.000; VCM 106 micras cúbicas; HCM 26 microgramos; CHCM 25 %. Neutrófilos 44%, linfocitos 55%, Monocitos 1%, anisocitosis, macrocitosis, hipocromía, marcadas. Un normoblasto por cada 100 leucocitos. Policromatofilia. Plaquetas cualitativamente normales, abundantes.

Abril 23. — Niño con buen estado general pero algo deshidratado, no hay bazo; hígado normal. Parece notársele muy leve tinte icterico. En sangre extraída por punción venosa: GR 5,53; Hb 15,5; Hematócrito 58; color del plasma levemente icterico. VCM 104; HCM 29; CHCM 27.

Abril 24. - Se nota muy leve ictericia en cara y tórax; no hay bazo; hígado normal; se alimenta bien: pecho únicamente.

Abril 25. - Ligeramente más icterico; no hay bazo; hígado normal; buen estado general; se alimenta bien al pecho.

Abril 26. - Está más icterico; hay bazo palpable; el peso del niño 3.060 gramos. A las 19 horas se extrae sangre venosa: GR 4,36; Hb 15,8; Hematócrito 46,5 %; plasma fuertemente icterico; GB 9.600; VCM 106; HCM 37; CHCM 35; Neutrófilos 40; linfocitos 60. Quince eritrocitos nucleados por cada 100 leucocitos. Plaquetas de tamaño grande, abundantes. Pocas horas después la ictericia era intensísima. De común acuerdo con el pediatra, resolvimos practicar la ET.

Abril 27. - A las 2,15 horas se inicia la venoclisís en dorso de mano; primer frasco 300 cc. de sangre O rh negativo, recién extraída, más 50 cc. de dextrosa 5% en sol. salina isotónica; se inyecta por el tubo 5 mgs. de heparina y 15 minutos después se inicia la sangría por arteria radial. La transfusión se continúa con otros 300 cc. de la misma sangre, sin agregado. A las 4,30 horas termina la operación: Transfusión 600 cc. de sangre, más 50 cc. de sol. dextroclorurada; Sangría 475 cc. Vitamina K antes de retirar la venoclisís. Penicilinoterapia.

El niño pasa el resto del día muy bien; al medio día ha disminuido la ictericia; a la noche se le nota edema en las paredes del abdomen y en las piernas. Ya no se palpa bazo.

Abril 28. - El edema es más generalizado; persiste la ictericia de la tarde anterior; no hay bazo. Se lo alimenta con leche materna hervida y agua; peso 3.100 gramos. En sangre venosa, tomada a las 12 horas: GR 5,81; Hb 15,7; Hematócrito 56; color del plasma icterico; VCM 96; HCM 28; CHCM 28; GB 6.700; neutrófilos 49; linfocitos 50; monocitos 1; un eritrocito nucleado por cada 100 leucocitos.

Abril 29. - El edema ha desaparecido casi por completo, la ictericia es menos pronunciada que el día anterior; no hay bazo.

Abril 30. - Niño muy bien, ictericia leve, no hay edemas, no hay bazo. Se alimenta con leche materna hervida.

Mayo 3. - Sigue muy bien. En sangre venosa: GR 5,50; Hb 14,5; Hematócrito 57; plasma levemente icterico; VCM 113; HCM 26; CHCM 26. GB 11.700; neutrófilos 35, linfocitos 64, monocitos 1; anisocitosis y macrocitosis marcadas; policromatofilia y anisocromia; no se observan elementos inmaduros. Plaquetas abundantes.

Volvemos a ver al niño cuando ha cumplido un mes; se encuentra perfectamente bien; GR 4,40; Hb 13,9; Hematócrito 45; plasma color normal.

COMENTARIO. El estudio realizado durante el embarazo, nos informó que no había diferencia de tipo sanguíneo entre ambos esposos, pero los antecedentes obstétricos nos obligaron a una vigilancia estricta del niño. Así fué como comprobamos al tercer día, una ligera ictericia que fué progresando lentamente hasta el sexto día en que se hizo rápidamente intensa, llegando al color naranja momentos antes de la ET. Además había esplenomegalia, pérdida de un millón de eritrocitos en las últimas 24 horas y aparición de formas inmaduras. Ignorábamos entonces, lo mismo que ahora, la causa de esta presunta EH. Teníamos la certeza que el niño moriría como el anterior y en breves horas, por lo cual resolvimos practicar la ET. Optamos por emplear sangre rh negativo; no podemos dar ningún fundamento a esta elección pues desconocíamos totalmente que clase de hemo lisinas podían estar en juego, produciendo el cuadro, que no difería del de una EH del recién nacido. El resultado de la ET fué realmente espectacular, pues ocho horas más tarde el niño era otro. La incomprensión de la madre nos ha impedido seguir investigando con miras a conseguir algún hecho que permita explicar la presunta incompatibilidad sanguínea.

CASO 6. - Niña N.A.B. - En abril de 1950, se nos envía una enferma con una discreta anemia, embarazada de siete meses aproximadamente y comprobamos que es grupo O rh negativo; el esposo O Rh positivo.

Aglutininas Anti-Rh:

1. en sol. salina: no se comprueban
2. en plasma humano: título 224

Antecedentes: Primer embarazo en 1947; feto muerto por circular de cordón y con apariencia de haber estado sano hasta el momento del parto.

Segundo embarazo en 1948: relata que a raíz de un gran susto, tiene parto prematuro (7 meses) y que el niño muere a las 10 horas con convulsiones, cianosis y quizás un poco «amarillo».

Tercer embarazo en 1949: termina con aborto a los 5 meses, también a raíz de un susto.

La enferma se nos pierde de vista: El día 4 de junio de 1950 nos traen la criatura de esta señora, que ha nacido en forma espontánea normal y a término el día 19 de junio: está fuertemente deshidratada, intensamente icterica desde el día anterior y se palpa el bazo francamente aumentado de tamaño; es O Rh positivo. Iniciamos de urgencia la transfusión en vena del dorso de la mano (se toma muestra de sangre con un frasco

de glóbulos O Rh positivo, privados del plasma y suspendidos en sol. salina isotónica, haciendo un volumen de 300 cc. Se inyecta heparina, 10 mgs. y se inicia la sangría por arteria radial. Terminado el frasco de suspensión globular, se continúa con 50 cc. de sol. isotónica y luego con 400 cc. de sangre total, fresca, O rh negativo a la que agregamos 200 cc. de solución salina isotónica. En el término de tres horas se han extraído 750 cc.; inyectamos vitamina K y nos disponemos a terminar la sangría, pero por dificultad en ligar la arteria se pierden otros 50 cc. más de sangre haciendo un total de 800 cc. Se inyectan vitaminas C y K (500 y 12 mgs.) y se continúa la transfusión hasta completar 950 cc. de volumen: 700 de sangre y 250 de solución salina. Penicilinoterapia. La muestra del comienzo de la operación había dado un hematócrito de 49% que interpretamos como una anemia enmascarada por hemoconcentración. Otra muestra 35%, y la última, cuando decidimos terminar la sangría, 37%, pero después se perdieron 50 cc.

Junio 5. - La niña está bien; la ictericia ha disminuido evidentemente; se ha alimentado y tomado agua y té varias veces; GR 4,00; Hematócrito 40%.

Junio 6. - Bazo reducido de tamaño; menos ictericia pero la notamos pálida; practicamos transfusión de 100 cc. de sangre total fresca, O rh negativo.

COMENTARIO. Se trata de otro caso grave llegado tardíamente para su tratamiento; a pesar de ello, el resultado de la ET fué terminante. No atribuimos la anemia posterior a la solución fisiológica inyectada que posiblemente ha sido retenida, en gran parte, por los tejidos deshidratados, sino a la sangría involuntaria, mayor de lo conveniente. Sólo con la transfusión practicada dos días más tarde, corregimos la hipovolemia y la anemia. Hemos visto a la niña cuando había cumplido cuatro meses, con muy buen aspecto general, criada con alimentación mixta y pesando ocho kilos.

CASO 7. - Niño F.T. - Este paciente nació de parto normal a término, el 30 de julio de 1950 y lo vemos, cuando han transcurrido 60 horas; desasosegado, con quejidos, con esplenomegalia y fuertemente icterico. Se nos informa que se ha manifestado pocas horas después del nacimiento. La criatura es O Rh positivo, la madre O rh negativo y el padre O Rh positivo. Es el cuarto hijo de este matrimonio; el tercero tuvo ictericia que desapareció espontáneamente sin secuelas.

Aglutininas Anti-Rh de la madre:

1. en sol. salina: título 1
2. en plasma humano: título 112

Agosto 1° A las 23 horas: se inicia la transfusión en dorso de mano instalando un primer frasco con 350 cc. de suspensión de glóbulos O Rh positivo en sol. salina isotónica; la marcha es muy lenta pues está mal colocada la aguja y debemos reinstalarla en la safena interna a nivel del maléolo tibial. Previa inyección de 5 mgs. de heparina, iniciamos la sangría por arteria radial. El segundo frasco contiene 350 cc de sangre total O rh negativo. Con pequeños intervalos, tomamos muestras

de la sangre que se extrae para hematócrito, con los resultados siguientes: 42%, 42%, 36% y 35%; el plasma cada vez menos ictérico.

Se termina la sangría a los 575 cc. y la transfusión a los 700 cc previa inyección de vitamina K. Penicilinoterapia. El niño ha tolerado bien la operación que finaliza a las 4 horas del día 2 de agosto. Por la tarde la ictericia es poco acentuada el niño tiene buen aspecto; se alimenta con leche de ama.

Agosto 3. - Sigue bien; no se palpa bazo; GR 5,50; Hb, 14; GB 16.200; neutrófilos 83%; linfocitos 15 %; monocitos 2 %. Marcada anisocromía, gran cantidad de policromatófilos algunos nucleados.

En los días siguientes el niño estuvo perfectamente y fué llevado al pueblo del interior de la provincia donde residen sus padres. Continuó con leche de ama.

Agosto 25. - Glóbulos rojos 4,16, Hemoglobina 12 gramos.; Glóbulos blancos 9.200; onisocitosis e hipocromía; no se observan elementos inmaduros.

Aglutininas Anti-Rh de la madre:

1. en sol. salina: no se comprueban
2. en plasma humano: título 112

En esta fecha fueron estudiados los otros hijos: todos O Rh. La madre no recibió nunca transfusiones ni inyecciones de sangre o plasma.

Septiembre 15. - Desde 20 días atrás el niño está con lactancia materna y nos lo traen porque lo notan pálido; GR 3,02.

Se practica una transfusión de 75 cc. de glóbulos lavados de la madre suspendidos en 25 cc. de sol. salina isotónica.

Septiembre 22. - GR 3,96; el niño ha continuado bien.

CASO 8. - Niña A.M. de A. - Agosto 16 de 1950. Solicitados con urgencia para investigar Factor Rhesus a una señora cuya hijita nacida quince horas antes con 2.750 gramos de peso, está ictérica; practicamos toma de sangre a la enfermita y ambos padres:

Madre: O Rh positivo

Padre: B Rh positivo

Paciente: B Rh positivo

Aglutininas Anti-B en la madre:

1. en sol. salina: título 896
2. en plasma humano: título 7.168

Frotis de la sangre de la niña: Gran reacción leucoeritroblástica; eritrocitos nucleados 50 por cada 100 leucocitos; uno que otro eritroblasto y abundantes elementos juveniles de la serie blanca; marcada poiquilocitosis.

La enferma es el tercer hijo; no hay otros antecedentes de interés.

Fundados en el alto título de aglutininas Anti-B en la madre con disociación «salino plasmática», en la ictericia precoz e intensa de la niña, en su fórmula sanguínea y en la presencia de bazo palpable, aconsejamos al pediatra la ET.

La niña tenía 23 horas cuando iniciamos la transfusión en vena del dorso de la mano, con un primer frasco de 500 cc. de suspensión de glóbulos O Rh positivo en sol. salina isotónica. Se inyectan 5 mgs. de heparina

y se practica arteriotomía radial para la sangría. Nueva inyección de 5 mg. de heparina al instalar el segundo frasco que contiene los glóbulos sedimentados de 500 cc. de sangre O Rh positivo resuspendidos en plasma fresco de sangre B Rh positivo. Cuando la sangría llega a 850 cc. la suspendemos y continuamos la transfusión hasta 1000 cc., inyectando vitamina K y 3 cc. de gluconato de calcio al 10 % al final. Penicilinoterapia.

La sangre venosa, tomada al instalar la transfusión dió: GR 3,82; Hb 15; Hematócrito 40; plasma fuertemente ictérico; VCM 104; HCM 39; CHCM 37,5; metamielocitos neutrófilos 5; granulocitos neutrófilos 90; linfocitos 5; aniso y poiquilocitosis marcadas; gran cantidad de policromatófilos; tres eritroblastos por cada 100 leucocitos; 70 nucleados por cada 100 leucocitos.

Agosto 17. - La niña se encuentra muy bien; la ictericia ha disminuido francamente; el bazo muy reducido; no hay edema.

GR 4,54; Hb 15; GB 9.400; anisocitosis y anisocromía; un eritrocito nucleado por cada 100 leucocitos.

Agosto 18. - GR 4,78; Hb 14; GB 5.700; algunos policromatófilos. En los días siguientes la enferma ha seguido perfectamente. Se alimenta al pecho materno.

Los hijos anteriores: varón de 5 años B Rh positivo; niña de 3 años O Rh positivo.

COMENTARIO. Para practicar la ET en este caso, nos hemos basado muy especialmente en el alto título de aglutininas anti-B frente a los glóbulos del esposo con gran diferencia salino-plasmática. Consideramos ésto suficiente para fundar un pronóstico serio; las demás investigaciones confirmaron el cuadro grave. Se nos había llamado solamente para investigar el Factor Rh y si nos hubiéramos limitado a ello, el diagnóstico exacto habría llegado tarde.

CASO 9. - Niño J.L.P. - La madre fue estudiada por primera vez cuando había cumplido el octavo mes de su cuarto embarazo: B Cde; esposo O cDe.

Aglutininas Anti-D:

1. en sol. salina: no se comprueban
2. en plasma humano: título 112

Prueba indirecta de Coombs: positiva. El plasma aglutina rápidamente, en porta-objeto, los glóbulos del esposo y otros glóbulos O Rh y B Rh.

Antecedentes: Nunca ha recibido hemoterapia.

Primer embarazo en 1941: niño vivo y sano.

Segundo embarazo 1942: niño vivo y sano.

Tercer embarazo 1946: parto a término; nace una niña ictérica que fallece a las 6 horas.

Por los datos que anteceden se resuelve la inmediata inducción del parto y el 29 de septiembre de 1950 a las 17 horas, nace un niño de 2.630 gramos con aparente buen estado general.

Sangre del cordón: Grupo O Rh positivo; prueba directa de Coombs: positiva. El bazo rebasa el nivel del ombligo; una hora después del nacimiento se nota ictericia.

Dos y media horas después del parto, el niño respira mal y se queja; iniciamos en ese momento la transfusión en vena del dorso de la mano con un primer frasco de 500 cc. de suspensión de glóbulos O Rh positivo en sol. salina isotónica; se inyectan 5 mgs. de heparina y se intenta cateterizar la vena umbilical sin resultado, por lo que se denuda de inmediato la arteria radial, iniciando la sangría cuando la transfusión, había llegado a 80 cc. La primera muestra da un hematócrito de 54 % y un plasma fuertemente ictérico. Transcurrida una hora, al verificar las cantidades: transfusión 200 cc; extracción 200 cc.; hematócrito 43%. Se acelera la transfusión de modo que al llegar a 500 cc. se han extraído 440 cc. Poco después de instalado el segundo frasco, que contiene 400 cc. de sangre total fresca O rh negativo, se obstruye la aguja por un pequeño coágulo y mientras se reinstala la transfusión, se aproxima la cantidad extraída a la transfundida; notamos que el niño se pone desasosegado, pálido, frío, y respira penosamente. Contrariamente a lo que era de esperar, la frecuencia cardíaca oscilaba entre 90 y 100 por minuto; se inyecta un centímetro cúbico de coramina subcutáneo y se calienta aún más al niño; hematócrito 39%. Detenemos la sangría momentáneamente e inyectamos 1 cc. de coramina por el tubo de transfusión; pocos minutos después el niño estornuda varias veces, eliminando regular cantidad de secreciones mucosas por boca y nariz, reaccionando bien. Tercer frasco 200 cc. de sangre total O rh negativo.

Al llegar a 970 cc. se detiene la sangría; hematócrito 50 %; se continúa la transfusión hasta 1.100 cc. inyectando vitamina K. Toda la operación ha durado cuatro y media horas; se han inyectado en total 15 mgs. de heparina. El niño pesa ahora 2.730 gramos, es decir 100 más que antes de la ET. Penicilino terapia.

Septiembre 30. - A las 12 horas: aspecto general bueno, muy leve ictericia; ligera hipertermia; a las 17 horas: GR 5,12; Hb 16,4; hematócrito 59%; GB 6.850; a las 24 horas: bazo reducido, hígado normal, ligera disnea, orinas claras; protidemia: 7,94 gr. % . Se inicia tratamiento con estreptomycin; se alimenta con leche de ama.

Octubre 19 - Muy leve ictericia; edemas discretos en extremidades, torso y párpados. Aparecen pequeñas manchas rojas congestivas en todo el cuerpo. Reflejos y llanto normales. Se continúa con vitamina K inyectable. Por la noche tiene algunos vómitos y no respira bien; se le da coramina en gotas.

Octubre 2. - Igual estado general que el día anterior; toma bien sus alimentos; no vomita y respira normalmente.

Octubre 3. - El niño sigue bien; las pequeñas manchas rojas han desaparecido. Octubre 24.

Aglutininas Anti-Rh en la madre:

1. en sol. salina: no se comprueban
2. en plasma humano: título 112

COMENTARIO. La bradicardia del niño nos indujo a no interpretar como anémicas algunas manifestaciones acusadas durante la ET; el hematócrito en cambio,

nos orientó bien, y posteriormente, el aumento de 100 gramos de peso confirmó, juntamente con la evolución favorable, que habíamos terminado la operación con un niño en buenas condiciones.

CASO 10. - Niño O.A.C. - Septiembre 30 de 1950. Se nos llama de un sanatorio de la ciudad, para atender a este niño de 3.500 gramos de peso, porque ha presentado ictericia pocas horas después de nacer. Parto por cesárea abdominal indicada por cesárea anterior, trabajo actual prolongado y sufrimiento fetal.

Antecedentes: Primer embarazo en 1947: termina en aborto espontáneo a los tres meses.

Segundo embarazo en 1948: A término, cesárea, 40 horas después el niño fallece; se puso «amarillo» poco antes de morir.

El tercer embarazo es el de nuestro paciente, a quien vemos por primera vez, cuando han transcurrido 6 horas del nacimiento y comprobamos: ictericia pronunciada; bazo muy grande que rebasa el nivel del ombligo; hepatomegalia; inquieto y quejándose.

Madre: B cde

Padre: O CDE

Paciente: O cDe; Hb 13,8; 21 normoblastos por cada 100 leucocitos; algunos eritroblastos. Coombs directa positiva.

Aglutininas Anti-Rh de la madre:

1. en sol. salina: no se comprueban
2. en plasma humano: título 224

Mientras realizábamos estas determinaciones y procurábamos sangre O rh negativo para la ET, se nos avisa que el niño está peor y que la ictericia ha aumentado.

A las 11 horas de vida del niño iniciamos la transfusión con 500 cc. de suspensión de glóbulos O Rh positivo, por goteo en vena del dorso de la mano; inyectamos 5 mgs. de heparina y cuando se han transfundido 50 c.c. se canaliza la vena umbilical con catéter de polietileno, al que adaptamos una aguja de 15/10 e iniciamos la extracción de sangre con jeringa.

Terminado el primer frasco de suspensión globular, se continúa con sangre total fresca O rh negativo; al llegar a 1.000 c.c. de extracción, retiramos el catéter y ligamos el cordón; restan 50 c.c. para transfundir, lo que se hace lentamente hasta completar 1.150 c.c. Se inyecta vitamina K. Penicilino terapia.

La operación ha durado en total 4 horas 20 minutos; durante ella se han inyectado 15 mgs. de heparina en dosis fraccionadas y se han tomado cuatro muestras para hematócrito que dan los siguientes resultados: 58, 50, 40, y 41%; la última muestra fue tomada cuando faltaban 100 c.c. de sangre a transfundir.

El niño ha tolerado perfectamente bien la operación. Se inicia tratamiento con penicilina.

Octubre 1° - Sigue bien; bazo e hígado disminuidos de tamaño. A pesar de las recomendaciones, no se le han dado líquidos y la diuresis es muy escasa. Se inicia alimentación con leche de ama.

Octubre 2. - GR 5,50; Hb 16; GB 3.700; abundantes policromatófilos y algunos normoblastos; no se obser-

van eritroblastos. Persiste un poco de ictericia en la extremidad cefálica; no hay edemas. Por la tarde aparecen pequeñas manchas rojas congestivas en todo el cuerpo; no son hemorrágicas pues desaparecen totalmente a la presión. Bazo e hígado más reducidos.

Ha tomado mucho líquido; la orina es abundante y tiñe muy poco los pañales.

Octubre 3. - El niño sigue bien; las manchas han desaparecido. En el frotis se observan muy pocos elementos rojos inmaduros.

Octubre 4. - Continúa perfectamente; ha desaparecido la ictericia.

Octubre 5. - Apenas se palpa bazo; se alimenta bien y tiene buen aspecto.

Octubre 24. - Hematócrito 55 %; Hb 14; polinucleares 31; linfocitos 67; monocitos 2. Aglutininas Anti-Rh en la madre: en plasma humano: título 448

COMENTARIO. La celeridad con que realizamos las investigaciones y la ET no demorada en su iniciación, han permitido que esta madre no perdiera la última oportunidad, quizás, de lograr un hijo.

No sabíamos a que atribuir la aparición de pequeñas manchas rojas diseminadas en todo el cuerpo, exantema que ya habíamos observado en el Caso 9 y que entonces atribuimos a la estreptomocina, pero que al repetirse en este otro niño, creemos que puede deberse a la heparina de marca distinta, a la usada, en los ocho casos anteriores.

RESUMEN DE LOS CASOS TRATADOS

INCOMPATIBILIDAD

Por factor Rh 8 Casos (1,2,3,4,6,7,9,10)

Por sistema A-B-O 1 Caso (8)

Desconocida 1 Caso (5)

ANTECEDENTES

Abortos o hijos muertos 5 Casos (1,5,6,9,10)

Hemoterapia isoimmunizante 1 Caso (3)

E. hemolítica en hijos anteriores 5 Casos (2,3,5,7,9,)

Múltiparas 10 Casos

PARTO

Espontáneo 7 Casos (2,3,4,5,6,7,8)

Inducido 2 Casos (1,9)

Cesárea 1 Caso (10)

ESTADO DEL NIÑO

Peso: término medio 3.090 grs.

Ictericia antes de 6 horas 5 Casos (2,3,8,9,10)

Ictericia antes de 24 horas 1 Caso (7)

Ictericia después de 24 horas 3 Casos (4,5,6,)

Esplenomegalia 6 Casos (5,6,7,8,9,10)

Eritroblastemia 5 Casos (3,5,7,8,10)

Pruebas de Coombs directas:

practicadas 2 Casos (9,10)

Pruebas de Coombs directas:

positivas 2 Casos (9,10)

Trastornos respiratorios, etc. 6 Casos (2,3,4,7,9,10)

SANGRE MATERNA

rh negativo (d) 8 Casos (1,2,3,4,6,7,9,10)

Rh positivo (D) 2 Casos (5,8)

Anticuerpos comprobados 9 Casos (1,2,3,4,6,7,8,9,10)

SANGRE PATERNA

Rh positivo (D) 10 Casos

SANGRE DEL NIÑO

Rh positivo (D) 10 Casos

Grupo "O" 7 Casos(1,3,4,6,7,9,10)

Grupo "A" 2 Casos (2,5)

Grupo "B" 1 Caso (8)

ESTUDIOS

Previos al parto 4 Casos (1,5,6,9)

Posteriores al parto 6 Casos (2,3,4,7,8,10)

Tratamiento desensibilizante 1 Caso (1)

TRANSFUSION

Por punción de venas periféricas 10 Casos

Sangre inyectada: término medio 712 cc.

EXTRACCION

Por arteriotomía radial 7 Casos (2,3,5,6,7,8,9)

Por vena umbilical 1 Caso (10)

Por ambas vías 1 Caso (1)

Por punción venosa 1 Caso (4)

Cantidad extraída: término medio 610 cc

SANGRE UTILIZADA

rh negativo 5 Casos (1,2,3,4,5)

Rh positivo 1 Caso (8)

rh negativo y Rh positivo 4 Casos (6,7,9,10)

Sangre total únicamente 5 Casos (1,2,3,4,5)

Suspensión globular y sangre total 5 Casos (6,7,8,9,10)

Sangre de varón 9 Casos (1,2,4,5,6,7,8,9,10)

Sexo no especificado 1 Caso (3)

PENICILINOTERAPIA 9 Casos (1,2,3,5,6,7,8,9,10)

TRANSFUSIONES COMPLEMENTARIAS

Una transfusión 3 Casos (4,6,7)

Dos transfusiones 1 Casos (2)

ALTA

Antes de los ocho días 7 Casos (1,3,5,6,8,9,10)

Después de los ocho días 3 Casos (2,4,7)

III

CONSIDERACIONES

1. Inducción del parto. - Desde el descubrimiento de la etiopatogenia de la EH, se pensó en la interrupción del embarazo con feto viable para substraerlo de

la acción nociva de los anticuerpos maternos. ¿Cómo realizar esta interrupción? Dos métodos se han preconizado hasta la fecha: la operación cesárea y la inducción médica del parto. ¿Cuáles son las ventajas e inconvenientes de cada uno de ellos?

La operación cesárea tiene la ventaja de extraer al feto rápidamente; suprimir la acción teóricamente perjudicial de las contracciones uterinas, los riesgos para el feto del pasaje por el canal pelviano, etc.

Los inconvenientes son: no modifica el estado de enfermedad en el feto; pronóstico más serio para la madre, tanto inmediato como para futuros partos; no asegura en forma absoluta el hijo vivo; si el feto está ya hidrópico, morirá casi indefectiblemente, muy pocas horas después de nacer.

Las ventajas de la inducción son: porcentaje muy elevado de éxito en la inducción hecha por el especialista; que se aproxima al 100% por tratarse en estos casos generalmente de multíparas; pronóstico materno absolutamente favorable; pronóstico fetal, casi como el de todo parto normal.

A la inducción médica del parto se le asigna el inconveniente que las contracciones uterinas harán pasar mayor cantidad de aglutininas de la sangre materna al feto y por lo tanto mayor peligro para éste; los peligros de traumatismo fetales, durante el pasaje por el canal pelviano; distocias de contracciones; sufrimiento fetal; infecciones amnióticas; etc.

Nuestra experiencia personal con este último método, es altamente favorable, pues sobre doce casos en los cuales lo hemos realizado por incompatibilidad sanguínea feto materna, en todos hemos logrado éxito y ha nacido la criatura en perfectas condiciones para ser objeto del tratamiento correspondiente. No hay ningún dato firme en la literatura, que apoye el concepto de que el niño está menos afectado cuando nace por cesárea que cuando lo hace por vía vaginal; una vez extraído o expulsado se lo deberá estudiar y tratar de acuerdo a la gravedad de su estado, sin ninguna relación con el método utilizado en el parto; la forma en que ha nacido el niño no es tomada en cuenta para juzgar la gravedad del caso ni para la indicación terapéutica.

Hemos inducido el parto a madres con niños afectados gravemente, que han fallecido después por ictericia grave, en la época en que no hacíamos aún la ET. Son abundantes los casos, en la literatura, de enfermas cesareadas que han perdido su hijo por EH cuando no era tratado o lo era en forma insuficiente. Pero hay más aún. Wiener y Wexler³⁵, publican un resumen de sus casos de ET, detallando el procedimiento usado para el parto y muestran una mortalidad fetal de 46,6 % en 15 nacidos por cesárea; 8,6% en nacidos por inducción médica y 15,3 % en 13 de parto espontáneo. Todas estas enfermas fueron estudiadas previamente al parto y la gravedad de la enfermedad era presumiblemente comparable de acuerdo al título de anticuerpos y al grado de prematuridad. En 23 casos que se presentaron con el niño enfermo, sin estudio previo y por lo tanto de partos espontáneos, la mortalidad fué

de sólo 4,3 %. Por ello llegan a la conclusión de que la cesárea debe ser evitada en eritroblastosis, para obtener una mayor seguridad de sobrevivencia fetal.

Nuestro concepto es en realidad parcialmente diferente. Aconsejamos la inducción del parto, porque confiamos en su eficacia e inocuidad, (por ser multíparas), tanto para el feto como para la madre, realizando lo menos peligroso para ésta, ante la incertidumbre sobre el verdadero estado de gravedad del niño; una vez nacido éste tenemos plena confianza en la ET y la madre quedará en iguales condiciones que antes para futuros embarazos, cualquiera sea la evolución del niño.

En cuanto a los inconvenientes que hemos enumerado para la inducción, podemos considerar que si en el trabajo de parto pasara mayor cantidad de anticuerpos maternos al feto, no hemos comprobado por ese hecho agravación fetal y, con cambio de sangre subsiguiente, ese peligro puede conjurarse. El canal de una multípara no ofrece, en realidad, mayores riesgos para el pasaje del feto, aunque éste se encuentre por la EH en inferioridad de condiciones físicas; las distocias de contracción se eliminan fácilmente con una vigilancia estricta de la enferma durante todo el trabajo; el sufrimiento fetal, en caso de producirse, se tratará de acuerdo a su etiología y como en los partos espontáneos; la infección amniótica, por fin, se conjurará, en los casos de ruptura artificial prematura o precoz de las membranas ovulares, con los antibióticos dados profilácticamente y con los tactos rectales subsiguientes para seguir la evolución del parto.

Por todo ello creemos firmemente que la inducción médica del parto, preferentemente desde el octavo mes en adelante, valorando el peso del feto in útero, como lo hemos preconizado y realizado desde el primer caso atendido por uno de nosotros en 1944,¹¹ es actualmente el tratamiento más aconsejable de la incompatibilidad sanguínea materno-fetal con isoimmunización de la madre.

2. Criterios para valorar la gravedad de la EH.

Dando por admitido que sólo ante un caso grave estará indicado practicar una ET, procuraremos pasar revista a los elementos que pueden orientarnos en la apreciación de la gravedad de un caso determinado.

Wallerstein en 1948,²⁹ asigna importancia a los datos prenatales: antecedentes de otros niños con EH, aborto de la segunda mitad del embarazo, hemoterapia isoimmunizante, presencia de aglutininas, aumento de bilirrubinemia y uricemia, gran tamaño uterino y edema fetal comprobado radiográficamente. Como datos post-natales menciona: ictericia del líquido amniótico, placenta muy grande, eritroblastemia en sangre del cordón conjuntamente con anticuerpos maternos, y, en el niño, ictericia, anemia y esplenomegalia dentro de las primeras 24 horas.

Diamond en 1948⁹, se orienta por la presencia de anticuerpos maternos y por la anemia, ictericia, edemas, esplenomegalia del recién nacido.

Mollison y Cutbush en 1949,¹⁶ recomiendan investigar los datos hematológicos de la madre y del niño y

practicar prueba de Coombs, pero insisten muy especialmente en la determinación de la hemoglobina en la sangre del cordón umbilical, concluyendo que valores superiores a 14,5 gramos por ciento indican caso benigno que curará aun sin tratamiento; por debajo de 8 gramos por ciento no suelen sobrevivir; entre 8 y 14,5 gramos, casos graves y medianos.

Wiener y Wexler en 1949,³³⁻³⁴ consideran de suma importancia el título y la calidad de los anticuerpos maternos, al punto de decidir una ET aun sin averiguar el factor Rh del niño, cuando el padre es homocigota y la madre posee un alto título de anticuerpos incompletos.

Pennell en 1950,¹⁹ toma en cuenta los siguientes datos del niño: ictericia, globulia de 4 millones o menos y hemoglobina 15 gramos o menos, antes de las 36 horas; prueba de Coombs positiva y eritroblastemia mayor de 200 por mm³. En la madre: presencia de anticuerpos Rh o desusados títulos de aglutininas alfa o beta juntamente con historia obstétrica o hemoterapia isoimmunizante.

Molony en 1950,¹⁸ enumera los siguientes datos: ictericia en las primeras horas, hepato y esplenomegalia precoces, hemoglobina por debajo de 12 gramos por ciento, más de 25 normoblastos por cada 100 leucocitos, prueba de Coombs moderada o fuertemen-

te positiva, índice icterico en sangre del cordón mayor de 50 unidades, historia de otros niños enfermos, cianosis y trastornos respiratorios no debidos a otras causas. Considera graves, los casos que reúnen cinco o más de los síntomas enumerados.

La verdad es que no contamos con ningún signo o síntoma unívoco, para determinar con certeza cuando un feto llegará a nacer vivo y ni siquiera una vez nacido, estamos capacitados para pronosticar sobre la evolución de su EH sino fundándonos en los antecedentes maternos y en todo el conjunto de datos clínicos y de laboratorio. La curva ascendente del título de los anticuerpos durante el embarazo tiene real importancia, pero no debemos olvidar que, podría tratarse de una reacción anamnésica inespecífica, de modo que nuestra actitud terapéutica en cuanto al niño mismo, debe quedar supeditada al examen de la sangre del cordón.

A continuación resumimos en un cuadro, las investigaciones más importantes, pre y post-natales, que conviene realizar ante un caso de incompatibilidad sanguínea con el objeto de formar un criterio diagnóstico y terapéutico. Hemos seguido, en lo posible, un orden cronológico y parecería obvio agregar que todas las ventajas están de parte de las investigaciones previas al parto y de la inmediata en la sangre del cordón.

INVESTIGACION PARA VALORAR LA GRAVEDAD DE LA EH

Prenatal	}	Antecedentes obstétricos Hemoterapia isoimmunizante Anticuerpos maternos
Parto	}	Líquido amniótico Unto sebáceo Placenta
Sangre del cordón o sangre del niño	}	Grupo y tipo sanguíneo Hemoglobina Hematócrito Color del plasma Número de eritrocitos Prueba directa de Coombs Eritroblastemia Anticuerpos libres
Examen clínico del niño	}	Ictericia Esplenomegalia Hepatomegalia Edemas Trastornos respiratorios Desasosiego, quejidos, etc.

3. Velocidad y control de cantidades. - Somos partidarios de la transfusión lenta y por lo tanto de la sangría lenta.

Al recorrer en la literatura la descripción de algunos casos infaustos relatados, se tiene la impresión de que

el edema de pulmón (cianosis, estertores en ambos campos pulmonares, etc.) puede haber sido la causa de la muerte del niño ocurrida horas después de la ET.

Creemos que cualquier técnica ejecutada en forma rápida tiene riesgos; consideramos que si se trata de

salvar una vida y en nuestras manos está ponernos a cubierto en lo posible de tales riesgos, no debemos dudar en sacrificar un poco nuestro tiempo, obteniendo así un mayor margen de seguridad.

Nuestra experiencia en casos de ET es muy reducido, pero es suficientemente amplia en hemoterapia de recién nacidos y lactantes pequeños. Cuando practicamos una transfusión de sangre o plasma que representa una cantidad de 20 a 30 cc. por kilo de peso corporal y pretendemos hacerla rápidamente, suele acusar el niño molestias atribuibles al aumento brusco de la volemia; si al realizar una ET se produjeran bruscamente variaciones de 50 cc. o más (1/6 del volumen sanguíneo aproximadamente), estaremos corriendo un riesgo innecesario; será muy difícil tener la certeza de que tales oscilaciones no se producirán en contados minutos si la sangría, y por lo tanto la transfusión, se conducen con un ritmo acelerado; en cualquier momento se alterará el paralelismo por exceso o por defecto de una de ellas.

Es indispensable llevar un prolijo control de lo que se transfunde y de lo que se extrae; para ello será necesario emplear recipientes bien graduados y de fácil lectura en todo momento.

Nos han sido de suma utilidad para este control, durante la operación: la *auscultación cardíaca* y el *hematocrito*.

Si la sangría es exagerada observaremos, como es lógico, taquicardia; si la inyección crea un estado de hipervolemia, bradicardia, pudiéndose llegar en pocos minutos a una verdadera plétora, con disnea, cianosis, etc. Con todo no debemos olvidar que el músculo cardíaco del feto ha sido capaz de realizar, hasta pocas horas antes, el trabajo que significa la circulación placentaria sin claudicar y que, de no producirse también anoxia, podrá tolerar cierta sobrecarga.

Repetidos hematocritos practicados en la sangre que extraemos, revelan la disminución progresiva del índice icterico del plasma además del volumen globular del momento. Es necesario centrifugar las muestras de inmediato para evitar la hemólisis *in vitro* que falsea los resultados.

El control final del peso de la criatura, es un dato muy interesante.

La transfusión gota a gota, sin denudación de venas, perfectamente regulable en cantidad y velocidad, nos ha dado muy buenos resultados; instalada en el dorso de una mano, nos deja libre el resto del cuerpo para practicar la sangría con la técnica que esté más indicada; nos permite, al terminar ésta, continuar transfundiendo lentamente, hasta obtener la poliglobulia deseada y agregar cualquier medicación suplementaria por vía endovenosa.

Por los motivos que llevamos expuestos, consideramos que el tiempo total que demandará una ET será de 3 a 5 horas y aún más.

4. Cuidados del niño. - Además de mantener al paciente abrigado, será conveniente agregar alguna fuente de calor que lo ponga a cubierto del enfriamiento, tan

perjudicial en el recién nacido, máxime si fuera prematuro. No hemos necesitado recurrir a la oxigenoterapia que puede estar indicada en muchos casos.

5. Suspensiones globulares. - Un detalle al que hemos dado gran importancia últimamente, es el de evitar o limitar al máximo, el aporte inicial de plasma cuando todavía la masa sanguínea del niño afecto de EH está compuesta por eritrocitos «cubiertos» por los anticuerpos maternos y plasma que contiene esos mismos anticuerpos en cantidades apreciables. El aporte de la «conglutinina» o proteína X, que parecería estar ausente del plasma del recién nacido, podría favorecer los procesos destructivos de las células rojas: aglutinación y hemólisis. En este sentido, nada sería tan perjudicial como una simple transfusión de plasma normal de adulto.

Nos ha parecido que se debe iniciar la transfusión con glóbulos sedimentados, privados del plasma y resuspendidos en solución isotónica clorurada, dextrosada o dextroclorurada y así lo hemos practicado sin excepción últimamente; evitamos de este modo agravar un proceso hemolítico que está en marcha y mientras tanto se va cumpliendo la renovación de la sangre del niño. No se considera extremar las cosas al punto de transfundir glóbulos lavados y resuspendidos; este recurso fué muy útil para la transfusión simple y estrictamente indispensable si no se disponía de otra sangre compatible que la de la madre, con el objeto de no inyectar todavía más anticuerpos al hijo eritroblastósico.

Es indudable que en nuestra «primera etapa» de la transfusión con suspensión globular, se produce una apreciable disminución de las proteínas, circulantes, pero no creemos que lo mismo suceda con las tisulares, porque la desproteínización será sólo transitoria y pronto corregida con el aporte de sangre total que quedará, en su mayor parte, en el torrente circulatorio del niño. A esta «segunda etapa», que siempre ha de cumplirse con sangre total fresca (no más de 24 horas de conservación) y en sus dos componentes, glóbulos y plasma, compatible e indestructible dentro del organismo del paciente, agregaremos o no soluciones cristaloides de acuerdo al estado de hidratación en que hayamos tenido al pequeño hasta ese momento.

6. Suspensión de glóbulos Rh positivos. - Cuatro veces hemos iniciado la ET con un primer frasco de glóbulos Rh positivos privados del plasma y resuspendidos en solución salina isotópica, a pesar de tratarse de niños cuyas madres poseían anticuerpos Rh : casos 6, 7, 9 y 10 con 300, 350, 500 y 500 cc. respectivamente. Hemos procedido así por necesidad, ante la urgencia de iniciar una ET y por no disponer en ese momento de la sangre rh negativo en cantidad suficiente para una renovación amplia; en tres casos hemos empleado, a continuación de la suspensión de glóbulos Rh positivos, mayor cantidad de sangre total rh negativo y en uno cantidades iguales; éste (caso 7) necesitó una transfusión por anemia a los 45 días y no

tenemos la certeza si ella se debió a que el niño quedó con un porcentaje grande de glóbulos Rh positivo o a la lactancia materna que se inició poco antes.

Al iniciar la ET con glóbulos Rh positivos sabíamos que podríamos continuar muy pronto con sangre rh negativo, la única que hubiéramos deseado en tales casos. Considerábamos que al terminar el primer frasco nuestro enfermo estaría, por lo menos transitoriamente, en mejores condiciones que antes de iniciar la remoción de sus glóbulos rojos «cubiertos» por los anticuerpos maternos.

7. Combinación de glóbulos y plasma. - Cuando en el proceso de isoimmunización materna puedan estar en juego dos o más aglutinógenos, será conveniente tenerlos a todos en cuenta para elegir los componentes sanguíneos apropiados para el caso. Así por ejemplo, estaría indicado un comienzo con suspensión de glóbulos O rh negativo en sol. salina o glucosada isotónica y terminar también con glóbulos O rh negativo resuspendidos en plasma AB o del grupo del niño, cuya madre posea anticuerpos Rh y a la vez un alto título de aglutininas alfa o beta. La neutralización de estas aglutininas puede obtenerse con las sustancias grupo específicas de Witebsky.

Si bien es cierto que entre dos aglutinógenos posibles, el organismo materno se isoimmuniza de ordinario con el más potente, el A ó B y no el D, no faltan casos relatados de poca supervivencia de los glóbulos transfundidos cuando sólo se tuvo en cuenta el problema Rh.

Dentro de las incompatibilidades sanguíneas, determinadas únicamente por el sistema A-B-O, pueden también ser útiles estas combinaciones de glóbulos y plasma; nuestro caso 8 es ilustrativo al respecto.

Lo ideal sería disponer siempre de sangre de los distintos grupos A, B, O Rh recientemente extraída o conservada no más de 24 horas. Si no se cuenta con suficiente cantidad de sangre en estas condiciones y a la vez suficientemente sedimentada, se recurrirá a una moderada centrifugación si el objeto es separar glóbulos o a una centrifugación completa cuando nos interese obtener plasma fresco, para combinar con otros glóbulos.

8. Eficiencia de la renovación sanguínea. - Si el objeto principal de la ET es sustraer al niño, la mayor cantidad, posible de su sangre para reemplazarla por otra que no pueda ser destruida, procurando dejarle con una cierta poliglobulia, es indudable que la eficacia de la operación estará relacionada con la cantidad, la calidad de la sangre que se emplee y las vías utilizadas para la renovación.

Wallerstein y Brodie,³⁰ en 1948, en un interesante estudio llegan a la conclusión que *hay* mayor eficacia en la renovación, cuando la sangría se realiza por el seno longitudinal o por la vena umbilical que cuando se la hace por la arteria radial. Para obtener una renovación del 90%, porcentaje óptimo según los autores, las técnicas del seno longitudinal o de la vena umbilical

serían 33 % más eficientes que la de la arteria radial.

Ultimamente Wasserman y Sharney³¹ y Wasserman y col.,³² han realizado estudios sobre el mismo asunto (aunque se refieren principalmente a otras indicaciones de la ET), empleando fósforo radioactivo para «marcar» los eritrocitos del paciente, concluyendo que la calidad y la cantidad de la sangre inyectada son factores preponderantes.

Fundados en razones de inocuidad y a la vez de eficiencia, nos parece que es muy satisfactorio extraer por vena umbilical, es decir, de la cava inferior, siempre que se transfunda por venas de los miembros superiores.

9.- Empleo de sangre de varón o mujer. - Allen, Diamond y Watrous² en 1949, con una excelente base estadística, aconsejan el empleo de sangre de mujer en la práctica de la ET. Nosotros hemos empleado la sangre que pudimos obtener en cada caso y, al precisar posteriormente el dato, hemos encontrado que nueve veces se ha utilizado sangre de varón, y en el caso restante, no fué consignada la procedencia en cuanto al sexo.

10. Citrato de sodio, calcio, heparina. - El empleo de suspensión glóbular durante la primera etapa de la ET, significa una reducción apreciable en la cantidad de citrato de sodio que se inyecta al niño. Sólo en un caso hemos usado gluconato de calcio al final y en muy pequeña cantidad. Cuando se realiza la sangría por la vena umbilical, puede reducirse también la cantidad de heparina y aun prescindir de ella.

11. Antibióticos. - Hemos aplicado sistemáticamente, penicilina durante las 48 horas siguientes a la ET.

12. Fundamentos de nuestra preferencia por la ET. - Ante un niño con síntomas clínicos evidentes, o con antecedentes maternos de otros niños enfermos o muertos por EH, más los datos que nos aporte el examen de la sangre del cordón, en este último caso aun antes de que manifieste ostensiblemente su enfermedad, debiendo optar entre los dos tratamientos que hasta el momento han sido aconsejados como los más positivos: la transfusión de glóbulos sedimentados como postula Pennell¹⁹ o la ET ya intentada empíricamente por Hart en 1925 y aconsejada fundadamente y practicada desde 1946 por Wallerstein, Wiener, Diamond y otros, nos inclinaremos por esta última.

Cualquiera sea la patogenia de la ictericia nuclear, secuela la más temible de la EH: embolias por aglutinación de hematíes en los capilares de los ganglios basales, causando la anoxia y la muerte de sus células (Wiener y Brody) ; mayor sensibilidad de estas células a la anoxia generalizada por estar menos vascularizadas; lesión vascular por los subproductos de la hemólisis (Davidsohn) ; predisposición de las células ganglionares para ser afectadas por sales biliares y toxinas (Docter); intervención de la insuficiencia hepática primitiva o se-

cundariamente; lesión directa de los núcleos basales por la reacción antígeno-anticuerpo (Vaughan y Molony); cualquiera sea la patogenia que se admita, creemos que la *renovación sanguínea precoz* y amplia, eliminando eritrocitos en vías de hemólisis, las «toxinas» derivadas de este proceso y los anticuerpos circulantes, fijados o no a los hematíes, que de otro modo seguirán actuando, es el tratamiento que ha probado ser capaz de evitar se produzcan, pocas horas después, más lesiones orgánicas definitivas que las que hubiere hasta ese momento.

Los tratamientos conservadores: transfusiones de glóbulos rojos lavados y resuspendidos, sangre total, sangre privada en parte del plasma, glóbulos sedimentados puros o resuspendidos, prefiriendo estos dos últimos métodos, creemos que deben tener su indicación limitada a los casos que pudieran catalogarse como benignos de acuerdo a los antecedentes, datos clínicos y de laboratorio. Con estos tratamientos, el proceso hemolítico podrá limitarse pero no desaparecer; la detención total o casi total de la enfermedad y la prevención de las lesiones orgánicas aún no establecidas, sólo podremos conseguirlas con una ET en la que utilizaremos no menos de dos veces el volumen sanguíneo del niño y dejándole al final una poliglobulia que bloquee el sistema hematopoyético, hasta tanto se eliminen los anticuerpos remanentes, circulantes o tisulares. Así evitaremos la necesidad de repetir las transfusiones, que son casi la regla con la terapéutica conservadora.

No hay motivo suficientemente fundado para considerar a la ET en sí misma, como una operación de mayores riesgos, si es practicada correctamente en sus dos partes esenciales: 1°) Una simple transfusión de gran volumen (600 a 1.000 cc. y aún más), pero incruenta (venas periféricas) y a un ritmo no muy acelerado, y 2°) Una sangría poco traumática (arteriotomía radial) o nada traumática (vena umbilical); evitando aportar elementos sanguíneos que puedan agravar el proceso hemolítico, verdadero substrato de la enfermedad; no inyectando otras sustancias en dosis tóxicas para el niño y manteniendo la extracción en todo momento acorde con la inyección para no producir anemia o plétora o ambas alternativamente.

RESUMEN

1. Se relatan diez casos de enfermedad, hemolítica del recién nacido: ocho por incompatibilidad Rh; uno por isoimmunización anti-B; uno por causa aún desconocida. Todos tratados favorablemente por exanguinotransfusión, cuyas técnicas se detallan.

2. Se aconseja como técnica de elección, la transfusión gota a gota por punción venosa en dorso de mano y extracción por vena umbilical o arteriotomía radial.

3. Se recomienda la transfusión lenta y la sangría lenta (duración de la operación 3 a 5 horas) con el objeto de asegurarse mejor contra bruscos desniveles en la volemia.

4. Con el fin de limitar el aporte inicial de «conglutinina» y de disminuir la dosis total de citrato de sodio, se considera útil comenzar la transfusión con glóbulos privados del plasma y resuspendidos en soluciones isotónicas; se termina con sangre total.

5. La práctica de repetidos hematocritos en la sangre que se va extrayendo, resulta de suma utilidad para controlar la marcha de la operación.

6. Se fundamentan las ventajas que, sobre la operación cesárea, tiene la inducción médica del parto (preferentemente desde el octavo mes en adelante y valorando el peso del feto in útero) para el tratamiento de la madre isoimmunizada, supeditando la terapéutica del niño al examen de la sangre del cordón.

7. Se considera que la exanguinotransfusión es actualmente, en los casos graves, el tratamiento más completo de la enfermedad hemolítica del recién nacido.

THE EXANGUINOTRANSFUSION IN THE HEMOLYTIC DISEASE OF THE NEWBORN

1.-Ten cases of hemolytic disease of the newborn infant are reported: eight with Rh incompatibility; one with anti-B isoimmunization and one case where we were unable to determine the cause. All were successfully treated by exchange transfusion. The technic is explained.

2. Drop by drop transfusion technic through one of the veins of the back of the hand, is advised. Extraction is performed through the umbilical vein or by radial arteriotomy.

3. Slow bleeding and transfusion are recommended (the whole procedure lasts from 3 to 5 hours) to avoid sudden changes in blood volume.

4. With the purpose of restricting the initial amount of "conglutin" and to diminish the total dosis of sodium citrate it is advisable to start the transfusion with blood cells without plasma and resuspended in isotonic solutions; whole blood is used to finish the operation.

5. The habit of performing several hematocrits through the procedure results in great usefulness in controlling the patient's condition.

6. The advantages of medical induction versus Cesarean operation are established (preferably from the eighth month onward and determining the weight of the fetus in utero) for the treatment of the isoimmunized mother, reducing the therapeutics of the child on examining the umbilical blood cord.

7. In serious cases of Hemolytic Disease of the newborn infant exchange transfusion is considered the best treatment.

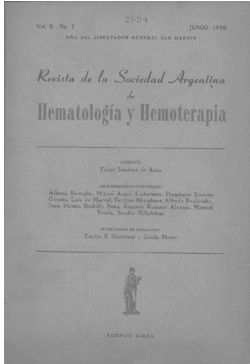
BIBLIOGRAFIA

1. Agerty, H. A., Wicksman, R. S. y Kacher, L.: Erythroblastosis fetal in a set of identical twins. Comparison of results with replacement transfusion and with conservative therapy. "Am. J. Dis. Chil."- 80, 63-68, 1950.

2. Allen, F. H., Diamond, L. J. K. y Watrous, J. B.: Erythroblastosis fetalis. The value of blood from female donors for exchange transfusion. "New England J. Med." 241, 799-806, 1949.
3. Arnold, D. P. y Alford, K. M.: A new technique for replacement transfusion in the treatment of hemolytic disease of newborn infant. "J. Pediat." 32, 113-118, 1948.
4. Arnold, D. P.: Evaluation of replacement transfusion in the treatment of hemolytic disease of newborn infant. "J. Pediat." 34, 293-298, 1949.
5. Bernard, J.: Maladies du sang et des organes hémato-poïétiques. pag. 998. París, Flammarion 1948.
6. Bessis, M.: La maladie hemolytique de nouveau-né. pag. 211-220. Paris, Masson & Cie. 1947.
7. Bomchil, G. y León, J.: La cesárea abdominal y la exanguíneo-transfusión en la profilaxis de la muerte neonatal por enfermedad hemolítica. «Rev. Soc. Hemat. y Hemot.» 2, 20-24, 1950.
8. Brancato, G. J.: Exchange transfusion in erythroblastosis fetalis and; other conditions. "Am. J. Dis. Chil." 80, 1-9, 1950.
9. Diamond, L. K.: Replacement transfusion as a treatment for erythroblastosis fetalis "Pediatrics" 2, 520-524, 1948.
10. Erythroblastosis fetalis and its treatment. Leading article. "Lancet." 2, 242-243, 1946.
11. Etcheverry, M. A., Linares Garzón, H. y Pereira, J. C.: Eritroblastosis fetal y Factor Rh. «Arch. Arg. Ped.» XXII, N9 3 y 4, 1944.
12. Etcheverry, M. A.: ¿Qué debe hacer el médico ante el caso de una mujer Rh negativa, embarazada? «Rev. Soc. Hemat. y Hemot.» 1, 77-84, 1949.
13. Ginsberg, V. y Feldman, F.: Analysis fifty cases of erythroblastosis fetalis. "Am. J. Obst. Gynec." 59, 618-626, 1950.
14. Leiva, H. y Schepeler, M.: Eritroblastosis fetal. «Sangre» 2, 11-27, 1948.
15. Mollison, P. L. y Cutbush, M.: Exchange transfusion in hemolytic disease of newborn. "Lancet." 2, 522-526, 1948.
16. Mollison, P. L. y Cutbush, M.: Hemolytic disease of newborn: criteria of severity. "Brit. Med. J." 1, 123-130, 1949.
17. Mollison, P. L., Mourant, A. E. y Race, R. R.: The Rh blood groups and their clinical effects. M. R. Coucil, Memorandum, London, 1948.
18. Molony, C. J.: Treatment of erythroblastosis. Analysis of community efforts using the substitution transfusion. "Pediatrics" 5, 1008-1021, 1950.
19. Pennel, S.: The treatment of erythroblastosis fetalis by transfusion with sedimented cells. "Blood" 5, 107-122, 1950.
20. Peralta Ramos,, A. y Etcheverry, M. A.: La incompatibilidad sanguínea conyugal de los grupos sanguíneos A-B-O. «Obst. Gynec. Lat. Am.» VII, 543-557, 1949.
21. Pérez, M. L. y Margulies, M.: El tratamiento de la enfermedad hemolítica fetal por la operación cesárea precoz y la exanguinotransfusión. «Obs. Gynec. Lat. Am.» VII, 370-380, 1949.
22. Pinkus, L. R.: Transfusions in newborn infants through abdominal wall segment of umbilical vein. "J.. Pediat." 33, 418-420, 1948.
23. Pollak, O. J.: Improved equipment for substitution in transfusion in the newborn with hemolytic disease. "Am. J. Obs. Gynec." 59, 220-221, 1950
24. Rosenblatt, P.: Massive necrosis of liver following exchange transfusion for erythroblastosis fetalis. "Am. J. Clin. Path" 18, 700-715, 1948.
25. Treatment of hemolytic disease of the newborn. Leading Article. "Lancet" 2, 536-537, 1948.
26. Vaughan, V. C., Allen, F. H. y Diamond, L. X.: Erythroblastosis fetalis. Problems in the interpretation of changing mortality in Erythroblastosis fetalis. "Pediatrics" 6, 173-182, 1950.
27. Wallerstein, H.: Treatment of severe erythroblastosis by simultaneous removal, and replacement of the blood of the newborn infant. "Science" 103, 583-584, 1946.
28. Wallerstein, H.: Substitution transfusion: a new treatment for severe erythroblastosis fetalis. "Am. J. Dis. Chil." 73, 19-33, 1947.
29. Wallerstein, H.: Treatment of erythroblastosis fetalis by substitution transfusion. "Blood" Special Issue N° 2, 170-179, 1948.
30. Wallerstein, H. y Brodie, S. S.: The efficiency of blood substitution. "Am. J. Clin. Path." 18, 857-866, 1948.
31. Wasserman, L. R. y Sharney, L.: Blood exchange in replacement transfusions I. Theoretic considerations. "Blood" 5, 925-937, 1950.
32. Wasserman, L. R., Rashkof, I. A., Sharney, L., Yoh, T. F. y Leavitt, D.: Blood exchange in replacement transfusion. II. Studies with erythrocytes tagged with radioactive phosphorus. "Blood" 5, 939-949, 1950.
33. Wiener, A. S. y Wexler, I. B.: Results of therapy of erythroblastosis with exchange transfusion. "Blood" 4, 1-35, 1949.
34. Wiener, A. S. y Wexler, I. B.: The use of exchange transfusion for the treatment off severe erythroblastosis due to A-B sensitization, with observations of the pathogenesis of the disease. "Blood" 4, 1014-1032, 1949.
35. Wiener, A. S. y Wexler, I. B.: Mortality following exchange transfusion in erythroblastosis. Preliminary report. "Am. O. Obst. Gynec. 59, 178-179, 1950.



Antecedentes históricos de nuestra Revista



La transfusión de glóbulos rojos sedimentados en el tratamiento de la enfermedad hemolítica del recién nacido (19 casos)

Dr. Linares Garzón, Humberto*

El tratamiento de la enfermedad hemolítica del recién nacido con transfusiones de glóbulos rojos sedimentados propuesto por Pennell¹ consiste esencialmente en el uso exclusivo de los glóbulos separados del plasma por sedimentación espontánea. La transfusión es de glóbulos solamente, sin plasma. Método sencillo en su aplicación, no requiere el «team» especializado indispensable en la exanguíneo transfusión y ocupa mucho menos tiempo. Las modificaciones introducidas por nosotros suprimen todo equipo especial y disminuyen al máximo sus riesgos posibles, de manera que el método queda al alcance de todo hemoterapeuta y también del médico práctico que hace transfusiones de sangre. Al igual que en todos los tratamientos modernos sucesivamente propuestos para la enfermedad hemolítica, son ineludibles las clasificaciones grupales y del factor Rh del niño y dadores para poder seleccionar previamente la sangre Rh-negativa homogrupal o compatible indispensable. El estudio del grupo y factor Rh de la madre permitirá establecer si la incompatibilidad entre madre e hijo se debe al factor Rh o a los factores A y B. En el primer caso los glóbulos a transfundir tienen que ser Rh-negativos de grupo compatible y en el segundo caso serán del grupo O y de tipo Rh igual al del niño.

Como se trata de un método de tratamiento que puede ser ejecutado repetidos por el médico práctico, creemos de utilidad la publicación de nuestra expe-

riencia de 19 casos de enfermedad hemolítica del recién nacido que hemos tratado en los últimos 12 meses con este método de Pennell modificado.

CONCEPTOS BASICOS QUE FUNDAMENTAN EL METODO

La técnica de conglutinación de Wiener² para la demostración «*in vitro*» de los anticuerpos de iso-inmunización inducidos por los antígenos de los sistemas Rh-Hr, ABO y otros de la sangre humana, se realiza en dos etapas.

En la primera, de sensibilización globular, se pone en contacto el suero problema, o sus diluciones si se trata de titular los anticuerpos, con una suspensión de glóbulos rojos conocidos de poseer el antígeno respectivo y se incuba a 37° durante 45 a 60 minutos.

En la segunda etapa, de aglutinación globular, debe extraerse del tubo todo el líquido sobrenadante, y los glóbulos ya sensibilizados se mezclan con 1 gota de plasma normal de adulto de grupo compatible y se repite la incubación.

Si el suero problema contiene anticuerpos anti-Rh o de otra especificidad se produce el fenómeno de la aglutinación globular, y si no tiene anticuerpos, la reacción es negativa.

La explicación de la prueba es la siguiente. En el

*Instituto de Maternidad de la Facultad de Medicina e Instituto Municipal de Hemoterapia de Córdoba.

Comunicación presentada a la Sociedad Argentina de Hematología y Hemoterapia en la sesión del día 12 de Junio de 1951.

primer tiempo de la reacción antígeno-anticuerpo la superficie de los glóbulos testigos queda cubierta o bloqueada por las moléculas de anticuerpos. La aglutinación globular provocada en el segundo tiempo, mediante el agregado de plasma compatible, evidencia que en este último elemento existe una substancia catalizadora o activadora del fenómeno de la aglutinación que Wiener² designó «proteína X» o «conglutinina». La proteína X existe también en la albúmina humana y bovina, y la dilución del plasma normal con suero fisiológico anula su actividad.

Si se efectúa esta técnica de conglutinación utilizando plasma de sangre de cordón de recién nacidos normales en vez de plasma de adulto, las reacciones obtenidas son negativas. Esto demuestra que la proteína X o conglutinina no existe habitualmente en el momento del nacimiento o que la cantidad existente es inferior al umbral mínimo de actividad.

Realizando pruebas de conglutinación con plasmas de niños de 1 a 7 días de edad se comprueba que la gran mayoría dan reacciones positivas después de las 24 horas y antes de las 72 horas, lo que demuestra que el desarrollo de la proteína X es posterior al nacimiento y que su cantidad o actividad aumenta rápidamente.

Nuestra experiencia con el uso diario de la técnica de conglutinación nos ha demostrado la existencia de marcadas diferencias individuales en la capacidad catalizadora de los distintos plasmas normales de adulto. La mayoría provoca aglutinaciones francas, pero algunos plasmas producen reacciones débiles y hemos encontrado dos dadores cuyos plasmas no eran capaces de provocar la aglutinación de los glóbulos sensibilizados por sueros anti-Rh de gran poder. La posibilidad de la existencia de personas que naturalmente carecen de proteína X o que la poseen en umbral inferior al de la actividad, nos indujo al uso sistemático de «pools» de varios plasmas frescos, obteniendo desde entonces resultados uniformes.

Hasta ahora nos hemos referido a la actividad «*in vitro*» de la proteína X. La demostración de la acción catalizadora de esta substancia «*in vivo*» está apoyada por las siguientes observaciones.

a) Los anticuerpos de procedencia materna que ingresan pasivamente, a través de la barrera placentaria, al torrente circulatorio del feto son capaces de sensibilizar y bloquear total o parcialmente sus glóbulos rojos.

El bloqueo total se comprueba con el hecho no infrecuente de obtener un falso resultado negativo al efectuar la determinación del factor Rh a un recién nacido con enfermedad hemolítica. El suero anti-Rh aglutinante testigo (con anticuerpos bivalentes o completos) da una reacción negativa que podría inducir a error al no experimentado. La prueba de Coombs confirmará que el niño es Rh-positivo. La frecuencia de reacciones débiles en estos niños, a pesar de usar sueros anti-Rh de gran poder, demuestra la frecuencia del bloqueo parcial de sus glóbulos.

b) Otra experiencia que evidencia la sensibilización

«*in vivo*» de los glóbulos es la siguiente: Una suspensión de glóbulos de un recién nacido con enfermedad hemolítica, lavada tres veces con suero fisiológico y extraído totalmente este último, si se pone en incubación con una gota de plasma normal de adulto es aglutinada por la acción de la proteína X. La misma prueba de Coombs es positiva en los niños enfermos y negativa en los normales.

Esto demuestra que la primera etapa de sensibilización globular que obtenemos «*in vitro*» en el primer tiempo de la técnica de conglutinación, se produce también «*in vivo*» en el organismo del feto, pues los glóbulos de estos niños son aglutinados con solamente la segunda etapa de la técnica.

La acción catalizadora «*in vivo*» de la proteína X en el desencadenamiento de la crisis hemolítica del niño con eritroblastosis o en el brusco aumento de la crisis existente antes del nacimiento está apoyada por la observación clínica que aporta hechos demostrativos de su rápida y progresiva actividad en el niño ya nacido.

Habitualmente la ictericia de la enfermedad hemolítica se presenta después del nacimiento en las primeras 48 horas y la mayor parte de las veces coincide con un marcado descenso de la globulía y de la hemoglobina del niño. Esta crisis brusca de destrucción globular es explicable por la actividad de la proteína X. En efecto, los eritrocitos del niño, durante la vida intrauterina, han sido sensibilizados y bloqueados por los anticuerpos incompletos de procedencia materna y desde las primeras horas subsiguientes al nacimiento van tomando contacto con la proteína X que aumenta rápidamente en cantidad y actividad en el plasma sanguíneo del recién nacido. Este proceso es equivalente a la segunda etapa, de aglutinación globular, de la técnica de conglutinación, con la diferencia que «*in vivo*» se produce la hemólisis y destrucción final de enormes cantidades de glóbulos rojos.

La observación de niños que nacen con ictericia y con anemia intensa y la misma forma hidrópica de la enfermedad hemolítica podría explicarse por la excepcional existencia de proteína X en el plasma del feto, sea por formación propia prenatal o de origen materno, y en este caso por paso a través de la barrera placentaria. Sabemos que la forma hidrópica y la forma ictérica de la enfermedad hemolítica son en realidad, causadas por el mismo proceso de hemólisis, habiendo sólo diferencias de precocidad e intensidad del proceso. La forma hidrópica sería explicable si tenemos en cuenta que los anticuerpos incompletos que son capaces de atravesar la barrera placentaria pueden actuar sobre los glóbulos del feto produciendo su bloqueo desde las primeras semanas del embarazo y si aceptamos la existencia de la proteína X en el plasma de algunos fetos. En este caso se produciría la conglutinación continuada desde mucho tiempo antes del nacimiento y como consecuencia la forma hidrópica con su anemia extrema. La forma precoz de ictericia grave con anemia en el momento del nacimiento se produciría cuando

la actividad catalizadora de la proteína X y la acción bloqueante de los anticuerpos se inician en períodos más tardíos del embarazo y tienen menor actividad.

El conocimiento del factor Rh y de los procesos de isoimmunización hizo surgir, como lógica solución terapéutica de la enfermedad hemolítica, el uso de las transfusiones de sangre total Rh-negativa, en la base de que los glóbulos Rh-negativos son indemes a la acción hemolizante de los anticuerpos anti-Rh. Esta terapéutica significó indudablemente un gran progreso en el tratamiento de esta enfermedad, pero la experiencia posterior demostró que después de las transfusiones algunos niños sufrían un agravamiento de su proceso a veces terminado con la muerte. En este tipo de transfusiones, conjuntamente con los glóbulos Rh-negativos, se introduce a la circulación del niño y vehiculizada en el plasma de la sangre transfundida, cantidad suficiente de proteína X para acentuar y acelerar aún más la conglutinación y hemólisis intravascular de los propios glóbulos Rh-positivos del niño, explicándose así la muerte o su agravamiento manifiesto. Wiener ha comprobado la aglutinación intravascular después de transfusiones de sangre total Rh-negativa.

Estas observaciones indujeron a Wiener a preconizar el tratamiento de la enfermedad hemolítica con transfusiones de sangre Rh-negativa, previa extracción de dos quintas partes de su plasma y reemplazo por igual cantidad de suero fisiológico o glucosado isotónico. Así se obtendría la suficiente dilución de la proteína X para anular su capacidad catalizadora sobre la aglutinación de los glóbulos sensibilizados del niño.

Posteriormente Wallerstein³, Diamond⁴ y Wiener⁵ introdujeron la técnica de la exanguíneo transfusión como tratamiento ideal de esta enfermedad. La concepción teórica del procedimiento está basada en los hechos siguientes:

a) Si las investigaciones prenatales en el suero materno demuestran la existencia de anticuerpos anti-Rh o anticuerpos de otra especificidad, especialmente si son del tipo incompleto o bloqueador, el niño será enfermo y debe ser sometido a la exanguíneo transfusión lo más pronto posible.

b) La exanguíneo transfusión permite eliminar un gran porcentaje de la sangre del niño sustituyéndola por sangre normal de adulto. Esto significa la extracción de los anticuerpos, o por lo menos su disminución en marcada cantidad, al mismo tiempo que se extraen los glóbulos rojos alterados y la hemoglobina libre y en exceso de la circulación del recién nacido con eritroblastosis, evitándose la continuación de la hemólisis y deteniéndose el progreso de la enfermedad.

Wiener⁵ teniendo siempre en cuenta la acción catalizadora de la proteína X, aconseja no usar sangre total y extrae las dos quintas partes del plasma sustituyéndolas por suero fisiológico o glucosado en un intento de destruir su actividad conglutinante al mismo tiempo que se mantiene una proteinemia compatible con la vida del niño.

La experiencia en base a las estadísticas publicadas demuestra, sin embargo, que el método de la exanguíneo transfusión no logra la curación de todos los casos de enfermedad hemolítica. La serie de Wiener⁶ de 28 casos tiene un 25 % de mortalidad; la de Diamon⁷ con 85 niños, un 24 %; la de Wallerstein⁸ de 27 casos, un 22 %, la de Arnold^{8 bis} con 26 casos, un 19 % y, por último, van Loghem y colaboradores⁹ resumen la experiencia de 43 médicos holandeses totalizándose 160 casos de exanguíneo transfusión con una mortalidad del 22,5 %. Nosotros, con la colaboración de A. R. Pezzi y E. Romero Díaz, hemos hecho 11 exanguíneo transfusiones con la técnica de Wiener, con 2 muertes (19 %).

La exanguíneo transfusión es un procedimiento de aplicación relativamente complicada, exige un equipo de técnicos muy capacitados, obliga a una dedicación exclusiva de varias horas continuadas en cada caso y está fuera del alcance del médico práctico. Por otra parte, las cifras demuestran que no reduce la mortalidad al mínimo esperado.

También se debe tener en cuenta que la exanguíneo transfusión puede no ser un procedimiento inocuo y que, de por sí, puede implicar determinados riesgos para el recién nacido. Rosenblatt¹⁰ ha encontrado necrosis masiva de hígado en niños fallecidos después de la exanguíneo transfusión y atribuye estas lesiones a las grandes cantidades de citrato de soda incluidos necesariamente en la gran cantidad de sangre empleada; a las grandes cantidades de gluconato de calcio administradas en el intento de neutralizar la acción tóxica del citrato de soda o a la misma mecánica del método. En el trabajo de van Loghem⁹ las autopsias de niños muertos después de la exanguíneo transfusión permitieron constatar las lesiones siguientes: embolia gaseosa, sepsis (absceso en el conducto de Aranti, trombosis de los vasos portales y abscesos múltiples de pulmón), todas atribuibles a fallas de técnica. Citan un caso de ruptura de bazo, y además manifiestan que es posible atribuir a la heparina, aunque no afirman que sea la causa de la muerte, un caso de hemorragia de las suprarrenales, uno de hemorragias de cerebro, pulmón y otros tejidos viscerales y un caso de hemorragia en todos los tejidos viscerales con ictericia nuclear.

Estas demostraciones de autopsia evidencian que la exanguíneo transfusión no es absolutamente inocua para el niño. Actualmente nosotros hemos restringido su uso a los casos que demuestran un intenso estado tóxico agregado al proceso de hemólisis, sin tener en cuenta la mayor o menor intensidad de este último. Es decir, no es la anemia la que predomina en la indicación de la exanguíneo transfusión sino, más bien, el estado general del niño. En los demás casos estamos utilizado las transfusiones de glóbulos sedimentados. Hemos compendiado en un cuadro los datos de los 19 niños que hasta ahora tenemos tratados con el método de Pennell modificado por nosotros.

MADRES		HIJOS										
Caso y fecha nacimiento	Historia obstétrica y N° Historia Clínica	Grupo sanguíneo y Rh	Anticuerpos (unidades)	Completos	Incompletos	Inicio de la ictericia	Edad (días)	Globulos rojos (en millones)	Hemoglobina %	Eritroblastos por c/100 blancos	Transfusiones (c.c. de glóbulos sedimentados)	Evolución posterior
N° 1 13/4/1950	6° embarazo. 1° prem. muerto 48 hs. 2° normal. - 3° y 4° fetos macerados. 5° aborto espontáneo 40 días. H. Cl. 1049	A rh-	-	-	8	A 3er. día. ce-sárea. Palidez intensa al nacer.	1 h. 1 3 6 10 12 15 36 48	3,0 4,4 4,8 4,1 3,5 4,8 3,5 3,0 4,8	85 110 102 82 76 90 70 60 88	26 2 0	50 50 50 100	A los 11 meses: normal
N° 2 23/4/1950	11° embarazo. Los 10 hijos anteriores normales. H. Cl. 829	O Rh ₁	alfas	320	5.120	A 20 hs.	1 2 4 8 60	5,1 3,5 3,3 4,1 4,3	105 82 78 90 88	?	60 60	A los 6 meses: normal
N° 3 26/4/1950	Unico embarazo. Transfusión plasma. H. Cl. 1198	A rh-	8	8	8	Anemia sin ictericia	3 4 15	3,6 5,4 4,6	75 103 85	0	60	A los 10 meses: normal
N° 4 27/4/1950	2° embarazo. Un hijo normal. Transfusión de sangre en 1949 (post parto)	A rh-	0	0	4	A 6 hs.	1 2 3	3,3 3,3 3,5	75 66 70	37	60 60	Fallece a los 3 1/2 días
N° 5 11/5/1950	2° embarazo. 1 aborto espontáneo 6 meses. Inyecciones de sangre Rh positivo a los 7 años. H. Cl. (privado)	B rh-	32	128		A 36 hs.	2 3 4 18 37 49 57 90	3,1 6,2 5,0 4,9 3,8 3,6 3,5 4,8	61 108 98 90 80 71 70 86	84 4 0	100 100 100	A los 10 meses: normal
N° 6 14/5/1950	4° embarazo. Los 3 anteriores, normales H. Cl. 1348	O rh-	1	8	8	Anemia sin ictericia	3 5 8 13 23	3,0 4,3 3,0 5,1	60 81 55 95	6 1	60 80	A los 8 meses normal

N° 7 23/6/1950	5° embarazo. Primero normal Los 3 hijos siguientes fallecieron a los 3, 4 y 2 días con enfermedad hemolítica H. Ci. 1740	A rh-	8	32	A Rh ₁	12 hs.	1 2 3 4 5 10 15 17 21 24 33 41 60	4,5 3,5 4,5 3,3 4,8 2,6 4,4 4,5 4,3 3,8 4,3 3,6 4,7	95 85 90 66 96 51 90 87 80 78 89 75 84	228 80 37 10 3	A los 10 me- ses: normal
N° 8 18/7/1950	4° embarazo. Tres hijos anteriores normales. H. Ci. (privado)	A Rh-	32	64	0 Rh ₁	18 hs.	4 7 10 24 54 84	3,6 4,7 5,0 2,9 3,8 5,0	65 80 91 55 67 86	41 0	A los 9 meses: normal
N° 9 y 10 7/8/1950	3° embarazo, gemelar terminado con cesárea a los 8 meses H. Ci. 1198	0 rh-	4	4	0 Rh ₂	6 hs.	2 hs.	2,0	45	440	Fallece (18 hs. de vida).
N° 11 22/8/1950	Dos embarazos anteriores: fetos macerados H. Ci. 2146										
N° 12 21/11/1950	3° embarazo. Un hijo normal. El 2°, feto muerto H. Ci. 2325	A rh-	1	4	0 Rh ₁	12 hs.	1 2 3 4 9 16 34 60	3,6 3,5 3,9 4,3 3,2 4,5 3,2 4,6	90 78 98 91 72 90 70 85	23 4	A los 7 meses: normal
N° 13 14/10/1950	4° embarazo. 3 abortos prov. de 1 mes H. Ci. 789 (E.P.)	0 Rh ₀	16	16	0 rh-	Anemia sin ictericia	4 5 6 7 11 45	1,6 1,5 2,0 3,6 5,1 4,8	40 40 45 70 95 90	0 0	A los 4 meses: normal
N° 13 14/10/1950	8° embarazo. 4 primeros hijos, normales. El 5° enferm. Hemolítica El 6° feto macerado y el 7° con enfermedad hemolítica H. Ci. 2938	0 rh-	2	8	0 Rh ₁	24 hs.	1 2 3	2,3 3,7 3,4	70 80 85	102 ? 66	A los 6 meses normal

N° 14 18/12/1950	2° embarazo. 1er. hijo normal Transfusión sangre en 1949, (post parto) H. Cl. 3710	0 rh-	4	32	A Rh ₁	48 hs.	4 6 25	3,6 4,4 4,7	79 90 92	4 0	70	A los 5 meses: normal
N° 15 10/11/1950	2° embarazo. 1er. hijo normal H. Cl. 1084 (E.P)	A rh-	4	8	A Rh ₁	48 hs.	4 6 8 20 138 150	2,8 3,6 4,8 4,0 3,6 4,3	59 87 95 85 72 86	? 80	80	A los 5 meses: normal
N° 16 7/1/1951	4° embarazo. 1er. hijo normal Después 2 abortos espontáneos 1 mes. H. Cl. 70	B rh-	8	32	O Rh ₁	Anemia sin ictericia	3 6 15 75	3,4 3,6 4,4 4,6	65 75 83 85	0 60	60	A los 3 1/2 me- ses: normal
N° 17 12/3/1951	3er. embarazo. 1er. hijo normal. El 2° ictericia, 5 días H. Cl. 768	0 rh-	2	4	O Rh ₂	36 hs.	2 4 7 9 15 35 40	3,1 4,0 4,0 3,2 4,6 3,1 4,8	78 94 92 70 85 60 92	23 0	80	A los 45 días normal
N° 18 11/2/1951	3er. embarazo. 1° normal, 2° aborto espontáneo, 2 meses H. Cl. 832	0 rh-	64	512	O Rh ₁	Anemia sin ictericia	16 17 19 24 30 33 38 43 60 65 75	1,6 4,0 4,4 2,7 3,9 3,8 3,7 4,2 2,9 5,6 4,9	33 79 82 52 80 77 72 80 50 98 95	226 16 0	80	A los 2 1/2 me- ses: normal
N° 19 17/3/1951	4° embarazo. 1er. hijo normal, 2° con enferm. hemolítica, 3° aborto espontáneo, 5 meses. H. Cl. (privado)	A rh-	16	128	O Rh ₁	48 hs.	3 4 5 7 9 12 19 28 40	4,2 3,2 4,2 4,2 2,4 3,9 2,5 5,2 4,8	85 69 95 81 54 79 50 95 92	50 28 4 0	60	A los 40 días normal

TECNICA DE LAS TRANSFUSIONES

Pennell utiliza sangre de banco, extraída en envase Baxter al vacío, conservada en refrigeradora el tiempo necesario para que los glóbulos rojos estén completamente sedimentados. Previo a la transfusión introduce a través de la protección de goma una aguja gruesa N° 15 ó 17 que rompe el vacío y sirve para entrada de aire y otra aguja N° 15 que debe canalizarse dentro del tubo de vidrio que llega hasta el fondo del frasco. La segunda aguja se conecta con un tubo de goma a una jeringa de tres vías de 50 cc. de capacidad, la que por el otro extremo es conectada a la vena del niño. La jeringa aspira los glóbulos desde el fondo del frasco y mediante un pase de llave se transfunden al niño por presión, tomando 15 a 20 minutos la transfusión de 50 a 60 cc. de glóbulos.

Hemos modificado la técnica usada por Pennell por las siguientes razones: primero, no haber conseguido en plaza la jeringa de tres vías de 50 c. c. indispensable; segundo, que en nuestro medio y por lógicas razones de economía, las extracciones a dadores se hacen en frascos Baxter esterilizados pero no cerrados al vacío, usándose muchas veces el mismo frasco. En EEUU el frasco cerrado al vacío en fábrica se usa una sola vez. La tercera razón es que con el método original de Pennell la transfusión se hace a presión, procedimiento que hemos abandonado hace varios años. En el Instituto Municipal de Hemoterapia que dirige el Dr. Arturo R. Fezzi la totalidad de transfusiones en niños y adultos se realiza con el método de goteo que permite uniformidad permanente de la velocidad de la transfusión y un exacto contralor de la misma e implica menos riesgos para el receptor.

Obligados a modificar la técnica resolvimos el problema haciéndola más simple y suprimiendo el uso de equipos especiales.

Los frascos están preparados con dos tubos de vidrio colocados en las perforaciones de la tapa de goma, uno es corto con un filtro modelo Damonte que permite salida de aire en la extracción y de la sangre filtrada en la transfusión, el otro tubo es largo llegando casi al fondo del frasco por donde entra la sangre en la extracción y el aire en la transfusión, ya que el frasco debe invertirse para transfundir.

Utilizamos glóbulos de sangre de Banco con 24 a 72 horas de permanencia en la refrigeradora. Para transfundirlos debemos previamente transvasar la cantidad necesaria de glóbulos sedimentados a otro frasco Baxter de 250 c. c., lo que hacemos con la siguiente maniobra: Al tubo largo adaptamos un tubo de goma que por su otro extremo se conecta al tubo largo del frasco que debe recibir los glóbulos. Por aspiración con pera la cantidad prevista de glóbulos es transvasada al segundo frasco, y en el momento oportuno se interrumpe el transvase con una pinza aplicada en el tubo que une ambos frascos. Todo el procedimiento se hace con material esterilizado y en circuito cerrado. Para efectuar la transfusión basta conectar un equipo para goteo, elevar e invertir el frasco. Utilizamos agujas de 7 y

8 décimas y obtenemos una corriente de 15 a 25 gotas por minuto. Una transfusión de 60 c. c. de glóbulos demora 45 a 60 minutos. En pocos niños con venas muy finas hemos usado aguja de 6 décimas y en estos casos aceleramos el ritmo hasta 10 ó 15 gotas minuto haciendo presión en el frasco con pera Richardson.

En dos casos (N° 12 y 15) la primera transfusión se hizo con glóbulos sedimentados por centrifugación de la sangre inmediatamente después de extraída. La tolerancia fué normal. Wiener y Sonn¹¹ utilizaron la transfusión de glóbulos rojos de la madre lavados con suero fisiológico por centrifugación, eliminando, por lo tanto, el plasma materno que vehiculiza los anticuerpos, aconsejando limitar su empleo a los casos en que no se disponga de dador Rh-negativo. Nosotros hemos empleado estas transfusiones al principio de nuestros trabajos, con éxito.

Respecto a las cantidades de glóbulos de cada transfusión en nuestros primeros 4 casos aplicamos la dosis aconsejada por Pennell, es decir, 50 ó 60 c. c. La observación casual que nos proporcionó el caso N° 5 y que resaltamos nos indujo a aumentarla hasta 70 y 80 c.c. por transfusión.

Caso 5. Segundo embarazo de madre grupo B Rh, negativa sensibilizada a los 7 años de edad con inyecciones de sangre de dador Rh-positivo (el padre). Un aborto espontáneo de 6 meses. Niño nacido a término, grupo B Rh-positivo, fenotipo Rh₁, con 3.900 grs. La ictericia fué observada a las 36 horas. Lo vimos a los 2 días de edad, intensamente icterico, bazo e hígado grandes, llanto débil y entrecortado, sopor y mal estado general. El hemograma fué de 3.140.000 eritrocitos, 61 % de hemoglobina, con 84 glóbulos rojos nucleados por cada 100 elementos de la serie blanca.

Como la globulia era inferior a la cifra que nosotros consideramos crítica e indicadora de urgencia en el tratamiento decidimos la transfusión de 60 c.c de glóbulos sedimentados grupo O Rh-negativos. Media hora después de terminada la transfusión se nos informó que por error el niño había recibido una transfusión de 100 c. c. de glóbulos, es decir, 40 c. c. más de lo indicado. La observación inmediata y continuada de la criatura no demostró ningún trastorno ni alteración atribuible a la transfusión. Al día siguiente tenía 6.210.000 rojos, 108 % de hemoglobina y sólo 4 eritroblastos por cada 100 blancos y su estado general había mejorado notablemente. La ictericia decreció gradualmente hasta desaparecer a los 15 días. La globulia se mantuvo y recién a los 49 y 59 días de edad fué necesario hacer dos nuevas transfusiones de 100 c. c. de glóbulos a causa de una anemia tardía. A los 10 meses el estado físico y psíquico del niño era completamente normal.

El volumen sanguíneo de este niño, calculado a razón de 88 c.c. por kilo de peso de acuerdo a Gimson¹² era de 343 c.c. Recibió, por lo tanto, 25.6 c.c. de glóbulos sedimentados por kilo. lo que equivale a 56.9 c. c. de sangre total por kilo teniendo en cuenta el 55 % de plasma que se excluye en este tipo de transfusión. Wiener¹³ propuso inicialmente el tratamiento de la en-

fermedad hemolítica con una transfusión de 75 c. c. de sangre total Rh-negativa, repetida uno o más días después según la evolución del enfermo. Esta técnica, anterior al descubrimiento de la proteína X y que también hemos utilizado, significa una dosis de 20 a 15 c. c. por kilo. Por otra parte, en lactantes y niños mayores, las dosis corrientes oscilan entre 15 a 20 c.c. por kilo.

La perfecta tolerancia a la dosis de 100 c.c. comprobada en el caso 5 y su manifiesta influencia favorable sobre el estado general nos decidió a utilizar dosis mayores que las indicadas por Pennell. Actualmente transfundimos entre 20 a 25 c.c. por kilo de peso o sea 70 a 80 c.c. en niños de 3 a 3 1/2 kilos. Las 31 transfusiones efectuadas con estas dosis han sido bien toleradas.

DISCUSION DE LOS CASOS

De 19 niños con formas graves de enfermedad hemolítica tratados por nosotros con transfusiones de glóbulos sedimentados, 5 recibieron la dosis sugerida por Pennell y 14 dosis mayores que nosotros utilizarnos. Tres niños murieron (mortalidad de 15,78%, el caso 3 con dosis de Pennell y los casos 9 y 10 gemelos prematuros, con las dosis mayores. Serán comentados más adelante.

Ictericia. - 14 niños tuvieron ictericia antes de las 48 horas, 1 al tercer día y 4 tuvieron anemia sin ictericia. En todos los casos la ictericia fué muy intensa, con el color típico y podríamos decir casi exclusivo de la enfermedad hemolítica, acompañada de gran cantidad de pigmentos biliares en orina. La desaparición del síntoma se produjo entre los 10 y 20 días en la mayor parte de los casos.

Anemia. - Los 19 niños tuvieron anemia intensa. La primera transfusión se hizo siempre con cifras de 3.600.000 rojos o menos. En 14 casos (73,68 %) se aplicó con globulia entre 3.000.000 a 3.600.000; en 2 niños (10,52%) con más de 2 y menos de 3 millones y en 3 niños (15,79%) la primera transfusión se hizo con cifras inferiores a 2 millones.

Estas cifras permiten apreciar la gravedad e intensidad de los procesos hemolíticos sufridos por los niños de nuestra serie.

Criterio para transfundir. - La experiencia personal de 10 años nos ha hecho fijar criterio sobre la necesidad y oportunidad del tratamiento transfusional. En nuestros niños con enfermedad hemolítica hemos aplicado sucesivamente las transfusiones de sangre total (antes del descubrimiento del factor Rh), las transfusiones de sangre total Rh-negativa, las transfusiones de glóbulos rojos lavados de la madre resuspendidos en suero fisiológico y en plasma humano compatible, las transfusiones sangre Rh-negativa con extracción de los dos quintos de volumen de plasma y sustitución con suero fisiológico, la exanguíneo transfusión y por último, las transfusiones de glóbulos sedimentados.

Es evidente que la exanguíneo transfusión exige la más rápida aplicación, a ser posible en las primeras horas de vida. La razón y fundamentos del método no permiten otro criterio. Es evidente, sin embargo, que cuando se resuelve encarar el tratamiento de un niño con transfusiones de sangre Rh-negativa, con extracción y sustitución de los 2 quintos del plasma -y no hay razón alguna para cambiar de criterio con las transfusiones de glóbulos sedimentados- la necesidad y oportunidad de aplicar la transfusión debe estar reglada por otras observaciones. La historia obstétrica de la madre, su sensibilización por heterohemoterapia, la precocidad de la ictericia nos obligarán a estar preparados para transfundir, pero no deciden, a nuestro criterio, la transfusión.

Estos niños tienen anemia hiperocrómica con valor globular alto, a veces muy superior a la unidad, debido precisamente al exceso de hemoglobina libre del suero sanguíneo a causa de la destrucción globular. Los porcentajes de hemoglobina son superiores a los que normalmente corresponderían al número de eritrocitos, y si nos guiáramos sólo por la hemoglobina podríamos caer en el error de subestimar el estado real de anemia.

Esta consideración nos indujo a dar el máximo de valor al número de glóbulos rojos y a su curva de descenso o ascenso, y nuestra experiencia nos aconseja considerar como «cifra crítica» indicadora de la urgente necesidad de transfundir cuando la globulia del niño llega a los 3.500.000.

Cuando vemos por primera vez al niño después de las 48 horas de vida (generalmente la ictericia precoz es la causa de la consulta) con una cifra inferior cercana a los 3.500.000 rojos indicamos la transfusión de urgencia. Si la cifra es superior nos preparamos para transfundir, controlamos diariamente la globulia y si ésta descendiende a la «cifra crítica» se hace la transfusión. Siguiendo este criterio hemos visto varios niños en los cuales la curva de eritrocitos ascendió espontáneamente hasta la normalidad, sin tratamiento transfusional.

Cuando vemos al niño en las primeras horas o al nacer hacemos diariamente contajes de rojos y hemoglobina e indicamos la transfusión recién en el momento que la globulia llega o se aproxima mucho a la «cifra crítica». Ejemplos de este criterio son el caso 2 que se transfundió al 2° día y los casos 7 y 19 que lo fue al 4° día, a pesar de no haber dudas sobre el diagnóstico de enfermedad hemolítica en evolución.

Efecto de la primera transfusión sobre la globulia. - La proporción y duración del aumento de glóbulos después de la primera transfusión es muy variable y está condicionada por la intensidad del proceso de hemolisis del niño.

Los casos registrados en la literatura de cambio transitorio del grupo sanguíneo en niños tratados con transfusiones de sangre total evidencian que el proceso hemolítico puede continuar hasta la desaparición total de los propios glóbulos del niño, que sobrevive gracias a los glóbulos del dador. Esta posibilidad explica la apa-

rente falta de respuesta favorable constatado en algunos casos (2, 4, 11 y 12) cuando 24 o 48 horas después de la primera transfusión de glóbulos sedimentados comprobamos el mismo y aun menor número de eritrocitos que antes de la transfusión. En estos casos el proceso hemolítico no fué detenido por la transfusión; la destrucción masiva de los propios glóbulos del niño ha continuado ininterrumpidamente quedando la circulación, en una inmensa mayoría, si no en la totalidad, los glóbulos rojos donados en la transfusión.

Otros enfermitos, en cambio, reaccionan con aumentos considerables de su globulia (caso 3, 8 y 14) con la primera transfusión.

Efecto de las transfusiones subsiguientes sobre la globulia. - La segunda transfusión, que efectuamos cuando la globulia vuelve a descender a la «cifra crítica o cerca de ella o cuando la primera transfusión no la hizo aumentar, produce siempre aumentos mayores y más duraderos, lográndose en la mayor parte de los casos cifras cercanas o superiores a los 4 millones de rojos. Solamente 3 niños (1, 11 y 13 exigieron 3 transfusiones y 1 (caso 12) exigió 4 transfusiones dentro de los primeros 16 días de vida. Los casos que debieron ser transfundidos nuevamente después de esta edad los comentamos al considerar la anemia tardía de la enfermedad hemolítica.

El caso N° 12 merece un comentario especial. El niño fué visto el 4° día con una forma anémica sin ictericia. El hemograma de urgencia dió 1.600.000 rojos, 40% de hemoglobina, anisocitosis y poiquilocitosis. Madre soltera primípara, con 3 abortos provocados, que no recuerda haber recibido transfusiones ni inyecciones de sangre. A las 16 horas del día de ingreso el niño fue transfundido con 70 grs. de glóbulos sedimentados grupo O Rh-negativos. A la mañana siguiente su estado no había mejorado, su palidez era extrema y el recuento dió 1.500.000 rojos con 40 % de hemoglobina. La madre fué clasificada grupo O Rh-positiva y el niño grupo C Rh negativo. Pensamos en la posibilidad de un falso resultado en la clasificación Rh del niño por bloqueo globular y mientras se repetían las determinaciones, se indicó la segunda transfusión de 70 grs. de glóbulos del mismo dador.

Las pruebas posteriores confirmaron los primeros resultados y se comprobó que la madre era fenotipo Rh° (cDe) y el hijo Rh-negativo (cde/cde) lo que indicaba que la madre era una heterocigota Rh°rh (cDe/cde). Esta situación excluía la intervención del sistema Rh-Hr en el proceso de isoinmunización materno. El suero de la sangre aglutinaba los glóbulos del hijo en medios salino y albuminoso en diluciones hasta 1:16 y también los glóbulos que fueron transfundidos al niño en las dos ocasiones. Estudios posteriores demostraron que el anticuerpo encontrado en la madre era activo contra el 6% de las sangres no seleccionadas, pertenecientes al grupo homólogo.

Con estos resultados y teniendo en cuenta que la segunda transfusión tampoco benefició al niño, ya que los glóbulos rojos al día siguiente eran solamente

2.030.000 con 45% de hemoglobina, indicamos dos nuevas transfusiones en días sucesivos de 80 c.c. de glóbulos sedimentados Rh-positivos, fenotipo Rh¹ (CDe) previamente comprobados compatibles con el suero materno. El efecto fue netamente favorable y a los 45 días de edad el niño tenía 4.850.000 rojos con 90 % de hemoglobina.

A los 4 meses se lo encontró física y psíquicamente normal.

Este caso demuestra la necesidad de estudios serológicos completos cuando el tratamiento no produce los resultados esperados sobre la curva de glóbulos rojos.

Creemos posible que el anticuerpo atípico encontrado en esta madre pueda ser el anti-Kell relacionado con el sistema antigénico Kell-Cellano.¹⁴⁻¹⁵

Anemia tardía de la enfermedad hemolítica. De los 16 niños curados, 9 (56,24%) repitieron el estado anémico después del período de recién nacido. Las edades límites de la aparición de este síndrome fueron 19 y 138 días, pero en la gran mayoría (7 casos) se presentó entre los 24 y 60 días. Hemos visto muchas veces este proceso que llamamos anemia tardía de la enfermedad hemolítica, aparecer entre 1 y 3 ó 4 meses de edad en niños alimentados siempre con pecho materno y curados con todos los tipos de tratamiento que sucesivamente se han propuesto para esta enfermedad.

Cathies¹⁶ ha demostrado que los anticuerpos anti-Rh ingeridos por vía gástrica a pesar de no ser destruidos por el quimismo estomacal, no son capaces de sensibilizar los glóbulos del niño ni de producir su hemolisis. Nuestra conducta es dar siempre el pecho materno, cualquiera sea el tipo y el título de los anticuerpos de la madre. Creemos un error la interdicción del pecho de la madre. Sus ventajas para el niño son tan importantes que preferimos correr el riesgo de tener que tratar una anemia tardía que cura fácilmente con 1 ó 2 transfusiones. En esta serie nosotros hemos usado también glóbulos sedimentados, pero en nuestros casos anteriores utilizamos transfusiones de sangre total, Rh-positiva cuando la criatura tiene más de 45 días, ya que el ciclo de actividad de los anticuerpos anti-Rh en el niño es menor de 45 días. Cuando después de más o menos tiempo de esta segunda etapa transfusional la anemia repite por tercera vez, procedemos a la supresión del pecho de la madre. Pocas veces nos hemos visto obligados a tomar esta medida que siempre fué seguida de una curación definitiva.

Terapéutica complementaria. - Todos los niños recibieron 1 ampolla de vitamina K cada 6, 8 ó 12 horas en los primeros dos días. Por vía bucal se les dió 4 a 6 gotas de Cynarex cada tres horas, en el primer día, y después del alimento en los días subsiguientes. Los primeros 11 casos tomaron 1 cucharadita rasada de Colitionine cada 6 horas hasta desaparición de la ictericia. Los 8 casos últimos tomaron ½ pastilla de 0,50 gr. de Metionina Dominguez cada 6 horas, también hasta

desaparición de la ictericia, en un intento de utilizar la acción protectora del aminoácido sobre la célula hepática. Los niños con estado general grave estuvieron con oxígeno durante 24 a 48 horas y algunos recibieron pequeñas dosis de Coramina.

Mortalidad. - Fallecieron 3 niños (15,78 %). En el caso 4 la ictericia fué visible a las 6 horas. La primera transfusión de glóbulos se hizo antes de las 24 horas de nacer. La globulia se mantuvo baja y tampoco se logró aumento importante después de la segunda transfusión. De 3.390.000 ascendió sólo a 3.580.000 después de 120 c.c. de glóbulos. Hasta el final del segundo día el estado general era relativamente satisfactorio, pero la ictericia había aumentado mucho. Al tercer día se puso intensamente icterico, presentando disnea, sopor, quejido continuo hasta su muerte a las 72 horas. En este caso el hecho de no haber aumentado el número de rojos indicaba la continuación del proceso de destrucción globular. No se pudo hacer autopsia.

Los casos 9 y 10 fueron dos gemelos univitelinos nacidos por cesárea a los 8 meses calendarios de embarazo. La cesárea fué indicada en base al diagnóstico efectuado de feto único y por los antecedentes de dos fetos macerados y la sensibilización de la madre Rh-negativa. El embarazo gemelar fué descubierto en el acto operatorio. Ambos niños nacieron en malas condiciones, con mala regulación térmica, quejido y muy pálidos. El primer feto tenía 2.000.000 de rojos y 45 % de hemoglobina y el segundo, 3.600.000 y 85 %. A pesar del inmediato tratamiento con glóbulos sedimentados fallecieron a los 18 y 26 horas de vida. No se pudo hacer autopsia.

Es evidente que ningún tratamiento de la enfermedad hemolítica es capaz de modificar las lesiones orgánicas que pueden tener estos recién nacidos y si éstas alcanzan un grado o extensión determinados pueden ser incompatibles con la vida.

Antecedentes de heterohemoterapia en la madre. - Las madres de los casos 4 y 14, secundíparas, fueron sensibilizadas por transfusión después de su primer parto, lo que seguramente influyó en el desencadenamiento de la enfermedad hemolítica en el hijo subsiguiente. La madre del caso 5 recibió a los 7 años de edad inyecciones de sangre que posteriormente fué confirmada ser Rh-positiva. Después de un aborto de 6 meses tuvo su primer hijo con enfermedad hemolítica. Por último, la madre del caso 3, primigesta, había recibido 2 años antes una transfusión de plasma.

Recientemente, nosotros¹⁷ hemos documentado la acción desencadenante de la heterohemoterapia por vía subcutánea, intramuscular y endovenosa sobre la enfermedad hemolítica. La posibilidad de que la transfusión de plasma sea capaz de provocar la iniciación de la isoimmunización materna, si el plasma procede de un dador Rh-positivo del tipo secretor, es decir, que tiene presente la substancia Rh en los líquidos y tejidos del cuerpo, ha sido sugerida por Wiener que publicó un caso semejante al que ahora presentamos.

Evolución final de los niños. — La observación frecuente de los 16 niños curados permitió comprobar que todos están en condiciones físicas y psíquicas normales, no encontrándose ninguna manifestación relacionada con Kernicterus.

RESUMEN

Se describe el método de tratamiento de la enfermedad hemolítica del recién nacido con transfusiones de glóbulos rojos sedimentados, se estudian sus fundamentos y se comentan sus ventajas sobre la exanguíneo transfusión y otros tratamientos.

Se modifica la técnica de Pennell suprimiendo el uso de la jeringa de tres vías y la transfusión por presión y se utiliza el método corriente de goteo.

Se aconseja el uso de dosis mayores que las indicadas por Pennell y se presenta una serie de 19 niños con enfermedad hemolítica todos con formas graves, con una mortalidad de 15,58 %.

En el comentario de los casos se estudian los efectos de la primera transfusión de glóbulos sedimentados y de las subsiguientes sobre la globulia, se estudia la cifra crítica que debe determinar la oportunidad y necesidad del tratamiento transfusional.

Se comenta la anemia tardía de la enfermedad hemolítica.

TRANSFUSION OF SEDIMENTED RED CELLS IN THE TREATMENT OF THE HEMOLYTIC DISEASE OF NEWBORN

The treatment of the hemolytic disease of the newborn by transfusion of sedimented red cells is described. Its fundamentals are discussed and its advantages upon the ex-sanguinotransfusion and other treatments are commented.

Pennell's technique is modified by supressing the three-ways syringe and the transfusion, using the current drip method.

Larger doses than those indicated by Pennell are advised and a serie is presented of 19 children with hemolytic disease, all serious forms with a mortality rate of 15,58%.

In the commentary upon the cases the effect of the first transfusion of sedimented red cells and of the following ones upon the globulia is studied. The critical number that should determine the oportunity and necessity of transfusional treatment is studied.

The late anemia of hemolytic disease is commented. (Translation: Rita Taylor).

BIBLIOGRAFIA

1. Pennell S.: Blood, V, 107, 1950.
2. Wiener A. S.: J. Lab. & Clin. Med. 30, 662, 1945. 3. Wallerstein H.: Science, 103, 583, 1946.

4. Diamond L. K.: J. Pediatr., 2, 520, 1948.
5. Wiener A. S. y Wexler I. B.: J. Lab. & clin. Med. 31, 1016, 1946.
6. Wiener A. S., Wexler I. B. y Schulman A.: Am. J. Clin. Path., 18, 141, 1948.
7. Diamond L. K.: J. Pediatr., 2, 520, 1948.
8. Wallerstein H.: Am. J. Dis. Child, 73, 19, 1947.
8. Arnold D.: J. Padiatr., 34, 293, 1949.
9. van Loghern J. J., van Bolhuis J. H., Soeters J. M. y Veeneklas G. M. H.: Brit. M. J., 2, 49, 1949.
10. Rosenblatt P.: Am. J. Clin. Path., 18, 700, 1948.
11. Wiener A. S. y Sonn E. B.: Am. J. Dis. Child., 71, 25, 1946. 12. Gimson J. D.: Brit. Med. J. 2, 293, 1943.
13. Wiener A. S., Wexler I. B. y Gamrin E.: Am. J. Dis. Child., 68, 317, 1944. 14. Levine Ph., Wigod M., Backer M. y Ponder R.: Blood 4, 869, 1949.
15. Levine Ph., Backer M., Wigod M. y Ponder R.: Science, 6 de Mayo 1949.
16. Cathies I. A.: Brit Med. J. 2, 650, 1947.
17. Linares Garzón H.: Arch. Arg. Pediat. , en prensa.

Reglamento de publicaciones

La Revista Argentina de Transfusión publica trabajos referidos a Hemoterapia e Inmunohematología. Los artículos podrán ser originales, de actualización, de revisión o de casuística, tanto nacionales como extranjeros. Aparecen cuatro números por año, formando un volumen de 300 a 350 páginas.

Todos los trabajos se presentarán dactilografiados por duplicado, a doble espacio, en hojas formato oficio escritas en una sola cara y con un margen izquierdo de 5 cm.

Los artículos serán enviados por correo electrónico, deberá adjuntarse el mismo como archivo de lectura (Ej. Word), acompañado de la carta de presentación.

En la casilla ASUNTO, se deberá colocar: Revista Argentina de Transfusión, para asegurar la correcta recepción del mismo. Los artículos se enviarán a la dirección: aahi@aahi.org.ar

Deberán cumplirse las normas habituales de exposición en literatura médica (Introducción, Material y Métodos, Resultados, Discusión y Resúmenes en castellano e inglés). Los resúmenes serán tan informativos como sea posible, pero respetando la condición esencial de la brevedad (extensión máxima, 20 líneas).

La primera página llevará el título del trabajo, apellido y nombres completos de los autores, función que desempeñan (cargo, actividad científica, docente o de investigación) con asteriscos que permitan individualizar los establecimientos en que fue realizado. Finalmente se consignarán la dirección, teléfono y e-mail del autor principal, a quien se remitirá la correspondencia.

Las figuras, sean fotografías, gráficos o esquemas, deberán clasificarse por numeración arábica, ser de buena calidad para su reproducción e incluirse adheridas a hojas separadas del texto, señalando claramente la posición en que deben ser reproducidas. En otra u otras hojas aparte se adjuntarán los textos de los pies de las figuras, los cuales deberán ser suficientemente ilustrativos para brindar, con su simple lectura, un comentario preciso sobre la imagen reproducida. Los cuadros y tablas se numerarán con cifras romanas y deberán encabezarse con título general expresivo de su contenido.

La bibliografía deberá contener únicamente las citas del texto, ordenadas correlativamente. Se incluirán en cada cita la totalidad de los autores que firman el trabajo, el título de éste completo y en su idioma original, y el nombre abreviado de la Revista según el **Index Medicus**. Se emplearán los signos de puntuación de acuerdo a los siguientes ejemplos:

1. Biancolini CA: Transporte de oxígeno y hemodilución normovolémica. Rev Arg Transf 1982;VIII (3): 65.
2. Zuelzer WW, Stulberg CS, Page RH, Teruya J, Brough AJ: Etiology and pathogenesis of acquired hemolytic anemia. Transfusion 1966; 6: 438.
3. Janot C, Andreu C, Schooneman F, Salmon C: Association des polyagglutinabilités de type T et B acquis. Rev Franc Transf Immunohématol 1979; 22: 375.

Las referencias a libros deberán incluir: autor o editor, título, edición, editorial, ciudad de edición y año. Ejemplo:

Mollison PL: Blood Transfusion in Clinical Medicine. Sixth edition, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1979.

La **Dirección de Publicaciones** se reserva el derecho de no publicar trabajos que no se ajusten estrictamente al presente Reglamento o que no posean el nivel de calidad mínimo exigible acorde con la jerarquía de la Revista. En estos casos, los artículos serán devueltos a sus autores, con las observaciones y recomendaciones que correspondan.

La responsabilidad por el contenido, afirmaciones y autoría de los trabajos publicados pertenece exclusivamente a los autores. Estos deberán retener una copia del original, pues la Revista no acepta responsabilidad por daños o pérdidas del material enviado. El **Comité de Redacción** efectuará las correcciones literarias o de estilo que considere necesarias.

Los trabajos deberán dirigirse a la Sección Publicaciones de la Asociación Argentina de Hemoterapia e Inmunohematología, Lavalleja 1214 - (1414) C.A.B.A., República Argentina. e-mail: aahi@aahi.org.ar

Algunas de las ventajas de ser socio de la AAHI

- 1. Revista Argentina de Transfusión.**
Es la primera publicación científica en español sobre la especialidad. Se editan cuatro números por año.
- 2. Noticiero virtual.**
Ofrece la posibilidad de estar al día con las novedades de último momento.
- 3. Reunión Científica Mensual.**
Se lleva a cabo el último miércoles de cada mes, en el Auditorio de la Clínica San Camilo, entre las 19:00 y 21:00 hs. (Av. Angel Gallardo 899, Ciudad Autónoma de Buenos Aires).
- 4. Título de Especialista.**
Puede ser obtenido por Médicos aprobando un examen de competencia.
- 5. Curso para la Formación de Médicos Especialistas en Hemoterapia e Inmunohematología (2 años).**
- 6. Curso para bioquímicos y biólogos que se desempeñan en Bancos de Sangre y Servicios de Hemoterapia. (2 años)**
- 7. Congresos, Jornadas, Simposios.**
La inscripción a tales eventos, sean de carácter nacional o internacional, se efectúa mediante tarifas preferenciales para socios.
- 8. Participación en los cursos de calidad en Servicios de Medicina Transfusional y Bancos de Sangre.**
Impartidos para que los socios puedan implementar los programas de Garantía de la Calidad y prepararse para las acreditaciones y habilitaciones
- 9. Recertificación científica.**
Periódica para médicos, bioquímicos y técnicos. La AAHI es el único ente habilitado por el Ministerio de Salud de la Nación para realizar tal certificación y re-certificación.
- 10. Servicio Bibliográfico.**
Se pueden solicitar trabajos científicos de la especialidad y se envían las fotocopias correspondientes.
- 11. Asesoramiento Técnico.**
Puede obtenerse a través de las diferentes subcomisiones específicas.
- 12. Servicio de Fax y Correo electrónico.**
Teléfono: (54-11) 4771-2501, para enviar o pedir correspondencia, y al e-mail: aahi@aahi.org.ar
- 13. Videoteca Científica.**
Las conferencias y congresos son grabados en video y audio, y están a disposición de los socios.
- 14. Participación de los socios en las clases teóricas del "Curso de Médico Especialista" y del "Curso para Bioquímicos y Biólogos que se desempeñan en Bancos de Sangre y servicios de Hemoterapia"**
- 15. Adquisición de Libros editados por la AAHI.**
A menor precio.
- 16. Desarrollo de la página Web**
www.donandosangre.org. Destinada a fomentar la donación altruista y repetida de sangre.
- 17. Acreditación de Servicios de Medicina Transfusional.** Exclusivo para socios.
- 18. Seguro de Mala Praxis.**
Para Profesionales y Técnicos socios, a precios preferenciales.
- 19. Tarjeta de Crédito.**
Posibilidad de abonar con tarjetas de crédito, la cuota societaria y otros servicios de la Asociación.
- 20. Secretaría.**
Atención de lunes a viernes entre las 14:00 y 20:00 hs. Lavalleja 1214, (1414DTZ), Ciudad Autónoma de Buenos Aires.
- 21. Revisiones Científicas.**
Se envían por mail dos veces por mes, actualizaciones científicas sobre temas esenciales de la especialidad.