



Inmunohematología basada en la evidencia

Dra Graciela León de González
Banco Municipal de Sangre del DC
Caracas – Venezuela
gonzaleo@cantv.net



Problema: Embarazada sensibilizada

Paciente femenina de 34 años de edad, II Gesta, I Parto, 0 Abortos, con embarazo actual de 28 semanas y quien dice ser Rh negativo y no haber recibido la inmunoglobulina anti Rh en su embarazo anterior porque su primer hijo fue tipeado como Rh negativo.

La paciente es enviada a nuestro laboratorio porque en la MCP le encontraron anticuerpos irregulares en el suero que impresionan tener especificidad para el Sistema Rh.

RESULTADOS PRELIMINARES

Grupo: O Rh: Negativo Coombs directo: Neg.

Investigación del D débil: Negativo.

	Pantallas	
	I	II
LI:	0	0
TA:	0	0
Alb:	2+	2+
37°:	2+	2+
CI:	4+	0



Problema: Embarazada sensibilizada

- 1.- ¿Tiene la paciente más de un anticuerpo?
- 2.- ¿Uno de esos anticuerpos es un Ac. Frío?
- 3.- ¿Tiene la paciente un Ac. Inmune?
- 4.- ¿Es posible que tenga un anti Rh(D)?
- 5.- ¿Cómo explica que una reactividad en albúmina y a 37° C, no se evidencie en Coombs indirecto?



Ortho-Clinical Diagnostics, Inc.

a Johnson & Johnson company

©OCD 1989 Raritan, NJ 08869

PATIENT NAME: _____

PATIENT ID: _____

DATE: _____ TECH: _____

CONCLUSION: _____

Lot No. RA527

Exp. Date 2006-05-23

CCYY-MM-DD

Panel
A

Reagent Red Blood Cells
Resolve® Panel A
Antigram® Antigen Profile

635200323

CASO 1 SUERO

Cell#	Rh-hr	Donor Number	Rh-hr										KELL				DUFFY		KIDD		Sex Linked	LEWIS		MNS			P	LUTHERAN		Special Antigen Typing	Test Results			
			D	C	E	c	e	f*	C ^w	V	K	k	Kp ^a	Kp ^b	Js ^a	Js ^b	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	Xg ^a	Le ^a	Le ^b	S	s	M	N	P ₁	Lu ^a		Lu ^b	Cell#	16	37C
1	R1wR1	300617	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	0	+	1	2+	2+	3+	
2	R1R1	105411	+	+	0	0	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	0	+	2	2+	2+	3+	
3	R2R2	300619	+	0	+	+	0	0	0	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+	0	0	0	+	0	+	0	0	+	3	2+	2+	0		
4	Ror	300593	+	0	0	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	0	+	+	0	0	0	0	+	+	+	+	0	+	4	2+	2+	0		
5	r'r	300613	0	+	0	+	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	+	+	0	0	0	+	+	0	+	0	0	+	5	0	0	3+		
6	r"r	118153	0	0	+	+	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	+	+	+	0	+	6	0	0	0		
7	rr	117317	0	0	0	+	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	0	+	+	+	0	+	+	+	7	0	0	0		
8	rr	112404	0	0	0	+	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	0	0	0	+	8	0	0	0		
9	rr	300541	0	0	0	+	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+	+	9	0	0	0			
10	rr	300607	0	0	0	+	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	0	+	0	0	+	+	+	10	0	0	0			
11	R1R1	117454	+	+	0	0	+	0	0	0	+	+	0	+	0	+	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	0	+	11	2+	2+	3+		
Patient Cells																																		
Mode of Reactivity			37°C/Antiglobulin					Antiglobulin					Variable			Cold			Var.															

* f antigen status may have been determined presumptively based on Rh-hr phenotype.

Shaded columns indicate those antigens which are destroyed or depressed by enzyme treatment.



Problema: Embarazada sensibilizada

- 1.- ¿Cuántos acs son?
- 2.- ¿Cómo explica que un anti D no reaccione en AGH?
- 3.- Y si pensamos en un anti G, ¿qué pruebas de laboratorio confirmarían esta premisa?
- 4.- ¿Qué genotipo(s) Rh probable(s) pudiera tener el padre?
- 5.- ¿Podría el padre ser Rh negativo?



Problema: Embarazada sensibilizada

Suero post- aloadsorción dirigida con cel. R₀ r

Cell #	Rh-hr	Donor Number	Rh-hr							KELL				DUFFY		KIDD			Sex Linked		LEWIS		MNS				P		LUTHERAN		Special Antigen Typing	Cell #	Test Results		
			D	C	E	c	e	f*	Cw	V	K	k	Kp ^a	Kp ^b	Js ^a	Js ^b	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	Xg ^a	Le ^a	Le ^b	S	s	M	N	P ₁	Lu ^a	Lu ^b			1	2	3
1	R1R1	117917	+	+	0	0	+	0	0	0	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	0	+	1	0	0	0	
2	R2R2	116235	+	0	+	+	0	0	0	0	+	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	0	+	2	0	0	0		
	Patient Cells																																		

Shaded columns indicate those antigens which are destroyed or depressed by enzyme treatment.

Ortho-Clinical Diagnostics, Inc.
a Johnson & Johnson company

Reagent Red Blood Cells
Selectogen®
©OCD 1989 Raritan, NJ 08869

SUERO POST ALOABSORCIÓN
DIRIGIDA CON CELULAS
R₀r (Dzē/dzē)

CASO 1

* f antigen status may have been determined presumptively based on Rh-hr phenotype.



Problema: Embarazada sensibilizada

RESULTADOS SEROLOGICOS DEL MARIDO

GRUPO: O Rh: Negativo D Débil: Negativo

FENOTIPO Rh:	D	C	c	E	e
	0	+	+	0	+

GENOTIPO Rh: r'r (dCe/dce)



Conociendo los resultados del marido...

- ¿Cuál es el fenotipo Rh de su primer hijo?
- ¿Podrá el feto actual presentar una EHRN?
- ¿Hay alguna prueba serológica durante el embarazo que nos oriente a la posibilidad de que el feto no será afectado?
- ¿Con qué células titularía usted este anticuerpo anti G en el curso del embarazo?





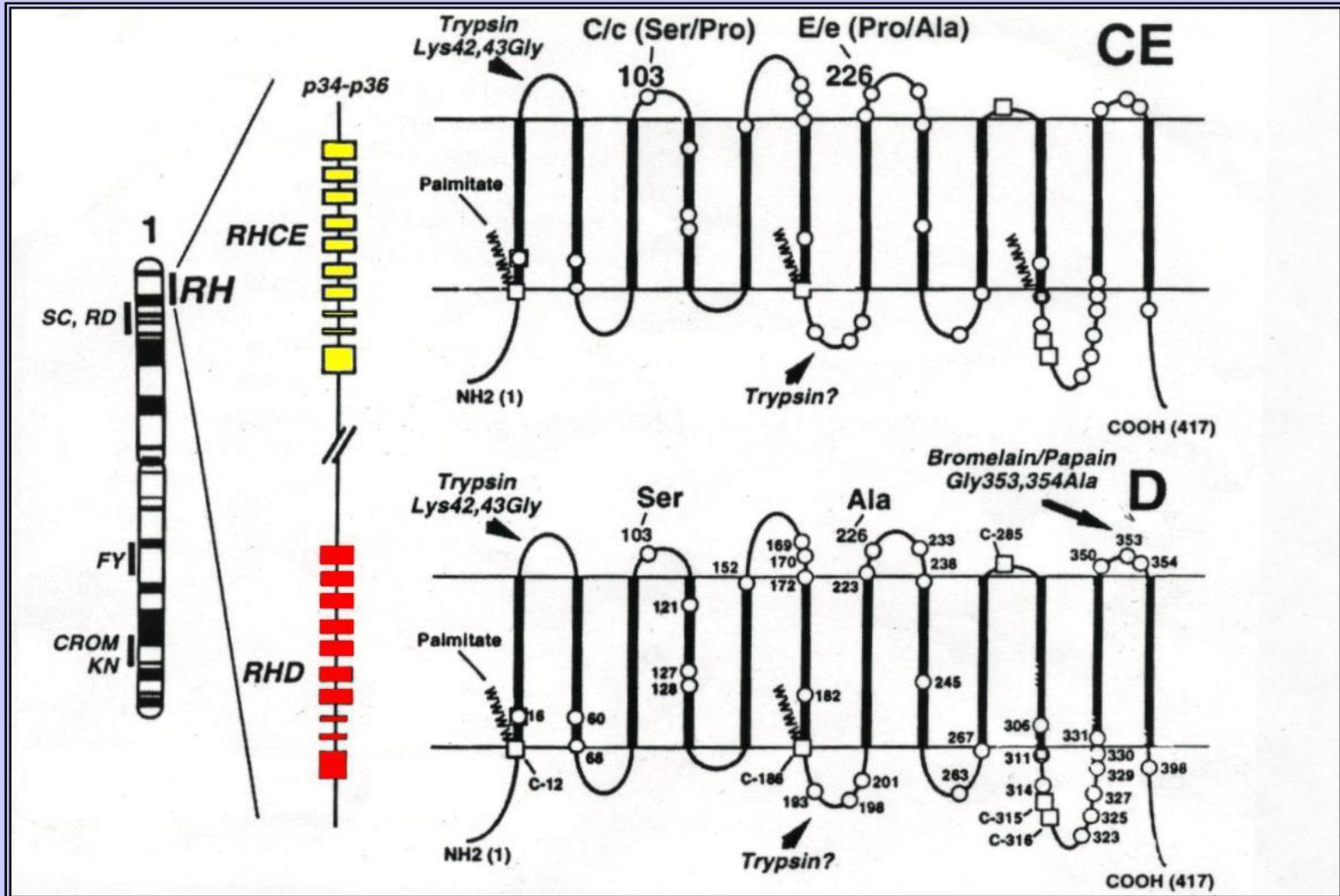
Problema: Embarazada sensibilizada

Conclusión

La paciente tiene una aloinmunización para el antígeno G del Sistema Rh. Esta aloinmunización produce un anticuerpo anti CD, de especificidades inseparables una de otra.

Estas pacientes deben recibir inmunoglobulina anti Rh(D) si el marido fuera Rh(D) positivo, ya que se considera que el antígeno Rh(D) es diferente al antígeno Rh(G).

Genes RH y Proteínas Rh



Tippett, 1986 Clonaje de los genes en 1990 Expresión en cel de eritroleucemia como dos proteínas separadas, 1996

**E
L
A
N
T
I
G
E
N
O**

“G”



Resulta de una serina en la posición 103



Puede ser codificado por el gen RHD ó por el RHCE



Está presente en los GR que posean D ó C



La actividad anti G no puede ser separada en anti D + anti C, por lo tanto es un anti CD.



Las personas Rh negativas expuestas a células C+ D- (r'r ó r'r') pueden desarrollar un anti Rh(G).



Las embarazadas Rh negativas con un anti G en el suero y cuyo marido sea Rh positivo deben recibir la Inmunoglobulina anti Rh.



Problema: Reacción después de transfusión compatible

- Paciente femenino de 46 años quien ingresa al servicio de traumatología con diagnóstico de Luxación Acetabular y Anemia Drepanocítica (Hb SS).
- Su médico tratante solicita 1 Ud de concentrado globular pre operatorio y 2 Uds SOS acto quirúrgico.
- La paciente había sido transfundida en varias oportunidades anteriores. Nunca tuvo embarazos



Problema: Reacción después de transfusión compatible

El banco de sangre realiza sus evaluaciones

Anti A	Anti B	Anti AB	Anti D	Hem A ₁	Hem B	AGH
4+	0	4+	4+	0	4+	Neg

Rastreo de anticuerpos: Negativo

Hb: 7,1 g/dL Hto: 22 % VCM: 108,0 fL CHCM: 41,2 g/dL
HCM: 39,0 pg Reticulocitos: 4,5 % Leucocitos: 11.000/uL
Plaquetas: 260.000/uL



Problema: Reacción después de transfusión compatible

N° Donación	Tipeaje	Alb	37°C	CI	CC
830	A Rh Pos	0	0	0	2+
831*	A Rh Pos	0	0	1 +	
843	A Rh Pos	0	0	0	2 +
847	A Rh Pos	0	0	0	2 +



Problema: Reacción después de transfusión compatible

Que pudiera estar generando esa prueba cruzada incompatible?

Será error de laboratorio?

Será un anticuerpo contra un antígeno de baja incidencia?

Será que los eritrocitos de la donación incompatible están autosensibilizados?



Problema: Reacción después de transfusión compatible

- Panel A y panel B: Negativos. Descartamos anticuerpo contra Ag de baja frecuencia?
- AGH directa de la donación incompatible: Negativa
- Se transfunde uno de los concentrados compatibles y los otros dos se reservan SOS



Problema: Reacción después de transfusión compatible

- Aproximadamente 6 horas después de la transfusión: Malestar, escalofríos, mareos, náuseas y vómitos, dolor abdominal y en región lumbar, dolor articular generalizado y orinas oscuras
- Médico de guardia: Hidratación, antipirético, analgésicos y observación. No le practicaron exámenes de laboratorio



Problema: Reacción después de transfusión compatible

- Como se explica lo sucedido?
- La sintomatología presentada tuvo que ver con la transfusión?
- Si es así, que tipo de reacción ocurrió?
- Que detalle clínico es importante considerar en este caso?
- Que conducta se debió seguir?



Problema: Reacción después de transfusión compatible

- 24 horas después de la transfusión llega la interconsulta al banco de sangre. Se toma nueva muestra: más ictericia que la pretransfusional (amarillo verdoso)
- Típeaje: A Rh positivo
- AGH: Positivo 2+ IgG: 2 + C3d: 1 +
- Rastreo de anticuerpos: Negativo
- Pruebas cruzadas: Incompatibles

Problema: Reacción después de transfusión compatible

Se repiten pruebas cruzadas con la muestra pre transfusión desde lectura inmediata hasta la fase de AGH

Don N°	GS	LI	TA	Alb	37°C	AGH	CC
830*	A Pos	2+	2+	2+	0	0	2+
843	A Pos	0	0	0	0	0	2+
847	A Pos	2+	2+	2+	0	0	2+

Problema: Reacción después de transfusión compatible

Muestra post transfusión

Don N°	GS	LI	TA	Alb	37°C	AGH	CC
830*	A Pos	3+	3+	3+	0	2+	--
843	A Pos	0	0	0	0	0	2+
847	A Pos	3 +	3 +	3 +	0	2+	

Se realizan evaluaciones de laboratorio:

Ex de Orina: Pigmentos biliares positivos

LDH: elevada Urea y creatinina: DLN

Bilirrubina: elevada a expensas de la indirecta

Hematología: No hubo incremento de las cifras de Hb/Hto



Problema: Reacción después de transfusión compatible

- Que otras datos se deben investigar?
 - Lectina anti A1 en muestra de la paciente pretransfusión: Negativo
 - Lectina anti A1 en eritrocitos utilizados en prueba inversa: Negativo
 - Lectina anti A1 en eritrocitos transfundidos

830*	843	847
4+	0	4+



Problema: Reacción después de transfusión compatible

- Que otras datos se deben investigar?
 - Se hicieron pruebas cruzadas con 06 unidades A1: Positivas
 - Con 03 unidades A2: Negativas
- Se realizaron eluidos por la técnica de Lui y con ácido glicina

	A1	A2	B	O
Lui	2+	0	0	0
AG	2+	0	0	0



Problema: Reacción después de transfusión compatible

- Se pudo haber prevenido?

De haberse detectado en la prueba inversa como anticuerpo IgM, sin importancia clínica ni transfusional, no se hubiera realizado nada diferente

Usualmente el anti A1 es un anticuerpo benigno no activo a 37°C y por lo tanto al hacer la prueba de compatibilidad resulta negativa.

En este caso hubo una respuesta anamnésica muy precoz incrementándose anticuerpos de tipo IgM y detectándose anticuerpos IgG. Provocaron reacción transfusional con fijación de complemento.



Problema: Reacción después de transfusión compatible

- **Conclusiones:**

- La paciente presentó una reacción hemolítica post transfusional ocasionada por anti-A1 con actividad hemolítica (EV/IV?)
- No se pudo constatar la presencia de hemólisis IV, pero la clínica y el haberse detectado fijación de complemento en el eritrocito apuntan hacia esa posibilidad.
- Aunque inicialmente no se actuó pensando en Reacción Transfusional, la conducta clínica fue adecuada. No hubo complicaciones



Problema: Reacción después de transfusión compatible

- **Conclusiones:**

- En los pacientes drepanocíticos las evidencias pueden ser confusas. La drepanocitosis es una anemia hemolítica. Una RAT puede desencadenar una crisis y una crisis puede simular una RAT. En esta paciente los síntomas persistieron por 4 días
- La paciente presenta otro anticuerpo contra Ag de baja frecuencia cuya especificidad no fue identificada pero que no estuvo implicado en la reacción
- Evaluación realizada 1 mes después, resultó negativa
- En sucesivas trasfusiones sugerimos utilizar eritrocitos A2



Característica de la respuesta inmune en drepanocíticos

- Son “buenos respondedores” contra antígenos eritrocitarios (fenotipo – HLA)
- Hasta un 30% puede estar sensibilizado.
- En un 55% de los casos hay mas de un anticuerpo
- Los anticuerpos tienden a estar en títulos muy bajos o indetectables
- El tiempo de persistencia de los anticuerpos (independientemente de la especificidad) puede ser muy breve por lo que es posible que se produzcan reacciones hemolíticas postransfusionales por respuesta ananmética
- Se ven con mayor frecuencia Síndromes Hiperhemolíticos



Gracias





Problema: No se consigue sangre compatible

- Paciente MP femenino de 40 años de edad acude por emergencia presentando signos de anemia severa e ictericia

Se le practica hematología que revela

Hb: 6,9 g/dL	Hto: 22 %	VCM: 108,0 fL	CHCM: 41,2 g/dL
HCM: 39,0 pg	Reticulocitos: 23 %	Leucocito: 12.500/uL	Plaquetas: 260.000/uL

**Fórmula: 80% segmentados, 18 % linfocitos, 2% monocitos.
Se aprecia macrocitosis, policromacia, punteado basófilo**



Problema: No se consigue sangre compatible

El médico solicita transfundir 2 Uds de concentrado globular y el banco le informa que no consigue sangre compatible

La paciente tiene como antecedentes:

- 3 embarazos – 3 partos
- Transfundida hace 7 años por politraumatismos en accidente automovilístico
- No hay historia de ingestión de drogas



Problema: No se consigue sangre compatible

Tipeaje	Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Anti-D	Hem A1	Hem B
	4+	4+	4+	4+	4+	4+

Rastreo de anticuerpos

	CI	TA	Alb	37°C	AGH	CC
Cel I	4+	4+	4+	2+	2+	-
Cel II	4+	4+	4+	3+	3+	-

Prueba de AGH Poliespecífica: Positiva 4+
Anti IgG: Positivo 4+
Anti C3d: Positivo 4+



Problema: No se consigue sangre compatible

Problemas presentados:

1. Discrepancia de grupo
2. Anticuerpos en suero que aglutinan en todas las fases

Hipótesis:

1. Es la intensa sensibilización la que está ocasionando la discrepancia? O son los anticuerpos séricos los causantes de la discrepancia?
2. Las aglutinaciones se deben a anticuerpo IgM de amplio rango térmico?
Hay anticuerpos fríos y calientes?
Hay aloanticuerpos, autoanticuerpos o ambos?



Problema: No se consigue sangre compatible

- Para resolver la discrepancia:

Se realizó autocontrol el cual resultó positivo 4+

Se practicó elución por calor y luego se repitió el tipeaje (con autocontrol negativo)

Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Anti-D	Hem A1	Hem B
4+	0	4+	4+	4+	4+

Continua habiendo discrepancia de grupo

Se repitió el Coombs PE y ME. Los resultados fueron los mismos
Título de AGH IgG 1 x 256 (S:42) Título de AGH C3d 1 x 32 (S:26)



Problema: No se consigue sangre compatible

Que tenemos hasta ahora?

- Autoanticuerpo frío, de especificidad anti I de amplio rango térmico
 - Título a TA y a 30°C: 1x 32
 - Título a 4°C 1 x 8
- Anticuerpos calientes:
 - Panaglutinina caliente fijada al eritrocito
 - Aloanticuerpos: especificidad?? Autoanticuerpos libres??
- Que hacer?
 - Autoadsorción /alloadsorción en frío
 - Autoadsorción en caliente



Problema: No se consigue sangre compatible

Anti A	Anti B	Anti AB	Anti D	Hem A1	Hem B
4+	0	4 +	4 +	0	4 +

Conclusión:

- Paciente A Rh positivo con proceso de intensa autoeritrosensibilización inmune lo cual provocó discrepancia de grupo.
 - Panaglutinina Caliente
 - Autoanticuepo frío de especificidad anti-I que también provocó discrepancia
- Anemia Hemolítica Autoinmune Mixta**
- Alosensibilización por anti-c (Sistema Rh) sin desestimar otros anticuerpos

Recomendaciones:

Evaluación Hematológica

Evitar transfundir en lo posible

En caso necesario, hacerlo con eritrocitos leucoreducidos de igual fenotipo Rh y K. Hacer la prueba cruzada con suero autoadsorbido



- No hay asunto por complejo que sea.....
- Que estudiado con paciencia e inteligencia....
- No se complique más

Autor anónimo