PRUEBA CRUZADA Detecciòn de Anticuerpos irregulares



Dr. Julio A. Vidal Escudero

Reacción adversa transfusional: Reacción Febril Hemolítica IV

- Francia: (1668). Giovanni Battista Denis, médico de Luis XVI .-Transf.de sangre de cordero
- "A la mañana siguiente emitió un vaso lleno de orina, de un color tan negro como si estuviera mezclado con el hollín de las chimeneas".

Transfusiòn de Humano a Humano *JAMES BLUNDELL*(1790 -1878)

El 26-9-1818 inyectó 4 onzas de sangre humana a una paciente con hemorragia post parto, extraida de su esposo. Recogía la sangre de vena mediante una cánula, la sangre se depositaba en un pequeño embudo y pasaba a la vena por gravedad

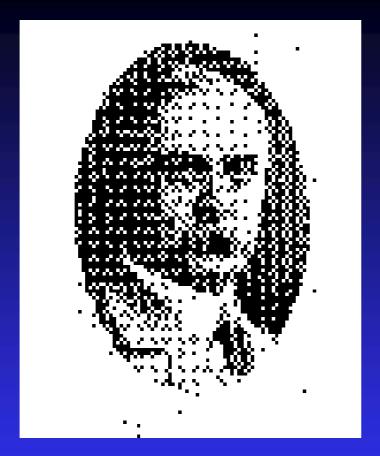
Transfusion de Sangre a Daniel Alcides Carrion: Sopesando Riesgo - Beneficio

- 27 de Agosto de 1885, a las 10 h, DAC, logró que su amigo, el Dr. Evaristo M. Chávez, le inoculara con la sangre del enfermo Carmen Paredes, de la cama N° 5 de la sala de Nuestra Señora de las Mercedes, perteneciente al servicio del Dr. Villar" (1).
- Se produjo una intensa anemia documentada por el Dr.Ricardo Flores (1`085,000 x mm3). Se plantea realizarle una transfusión de sangre y se le traslada a la Clìnica Maison de Sante.

Perales Alberto. Evaluación ética de la autoexperimentación de Daniel A. Carrión y su perfil de personalidad. An. Fac. med. v.64 n.3 Lima jul./sep. 2003 Facultad de Medicina, UNMSM.

Transfusion de Sangre a Daniel Alcides Carrion: *Sopesando Riesgo - Beneficio*

- Carriòn acepta la transfusion. Uno de sus condiscipulos acepta donar su sangre.
- Una Junta Mèdica integrada entre otros por el Dr. Villar decide no Transfundir por que "temían las consecuencias de tal intervención por la dificultad de predecir los resultados.
- Los riesgos, probablemente, eran mucho mayores que los posibles beneficios.
- Este hecho molestó a Daniel. Al día siguiente, 5 de Octubre, su estado empeora y entra en coma. Falleció a las 11:30 p.m. (1).

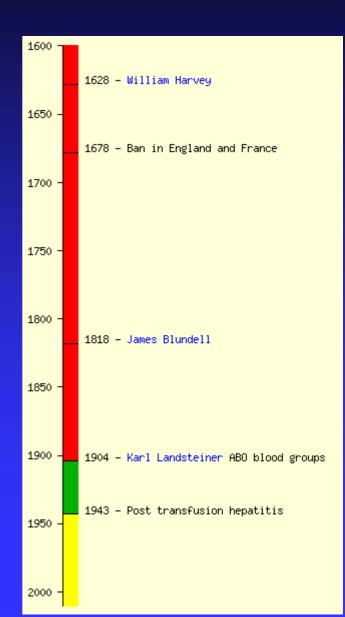


En el Perú la primera transfusión la realizó el Médico italiano J.Copello, el año 1867, con la técnica "brazo a brazo".

Francisco Alayza E.Historia de la Cirugia en el Perú.1992.

El Siglo XX

- Ludwig Hektoen (1907)
 - ◆ Prueba Cruzada
- Richard Weil & RubenOttenberg (1907)
 - Primeros tipeajes antes de trasfundir
 - Reconocen la utilidad de donantes tipo "O"



Transfusion de Sangre en el Perù

- E Dr. Oscar Guzman del Villar organizò los primeros servicios transfusionales en el Perù: en el Hosp. Militar San Bartolomè y luego en el Hosp. Arzobispo Loayza (1929).
- El año 1932 los mèdicos residentes del H.A.Loayza informan que "habiendo sido suprimida la plaza de mèdico transfusor, hemos realizado todas las transfusiones solicitadas. En esta tarea nos ha ayudado eficazmente el personal de Laboratorio, aunque debemos decirlo, su falta no habrìa sido obstàculo para realizarlas, ya que conocemos la tècnica para establecer las compatibilidades del Donante y Donado".

Reacciones adversas Transfusionales en el S XX

- Francia (1994-1998): 7000 icidentes transf.
- Prevalencia: 2.5 / 1000 transfusiones
- Plaquetas: 4 / 1000
- Glòbulos Rojos: 2 / 1000
- Plasma: 0.3 / 1000
 - ◆ Sin Morbilidad a corto y largo plazo 75%
 - Morbilidad a largo plazo 22 %
 - Morbilidad inmediata 3 %
 - → Muerte 0.7 %

Muchas causas de Reacciones adversas son fallas en los procesos

- Incompatibilidad ABO 1/139,000
- Errores en la entrega 1 /50,000
- Urticaria, prurito y Shock anaf. 32 %
- Reacciòn Ag Ac: 12 %
- No identificable: 50 %

Transfusion. 2002; 42: 1356-64.

Pruebas de Compatibilidad

1. G.S. ABO Detección Ag A y B

Detección Ac Regulares

GS Rh Detección Ag D.

3. Prueba Cruzada Detección Ac

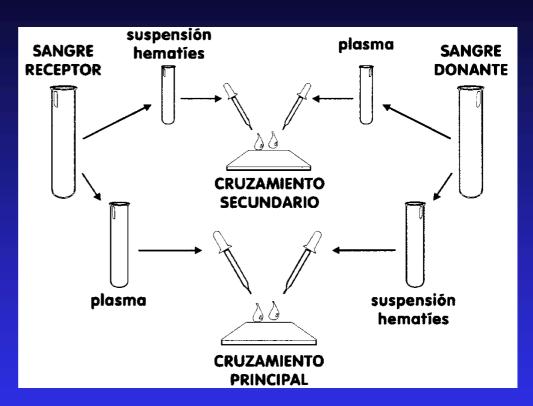
irregulares en Receptor

contra GR Donante.

4. Detección de Ac irregulares contra los Ag de mayor significado clínico.

1884-1952

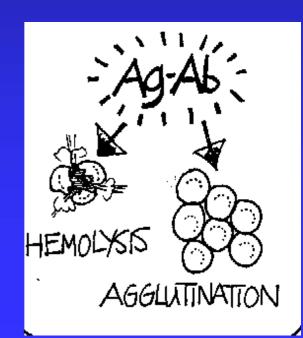




Ludwig Hektoen (1907)

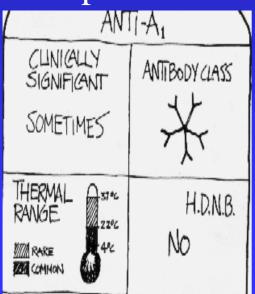
PRUEBA CRUZADA

- La prueba cruzada mayor es un procedimiento que consiste en enfrentar el suero del paciente (receptor) contra los Glóbulos Rojos del donante y tiene como finalidad:
- Asegurar la compatibilidad Donante – Receptor.
- Detectar anticuerpos irregulares clínicamente significativos en el receptor contra antígenos presentes en los glóbulos rojos del donante.



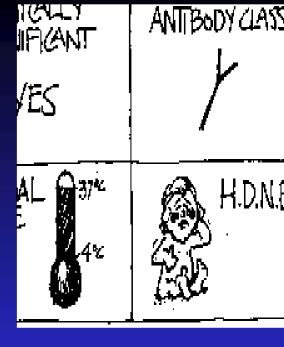
1a Fase:

- En medio Salino.
- T° ambiental
- Sin
 potenciadores
 de aglutinación
- Detecta Ac.Completos.



2da Fase:

- Con albúmina
- Detecta Ac Incompletos (37°C)
- Aumenta la sensibilidad para detectar Ac completos a
 To ambiental o en frio

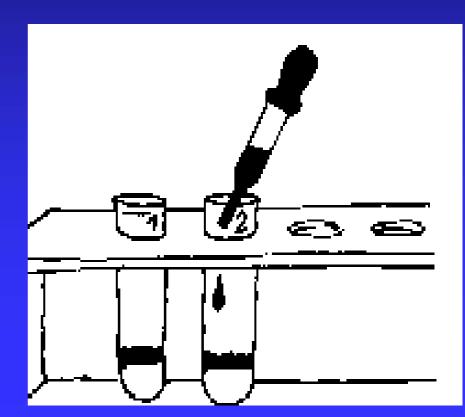


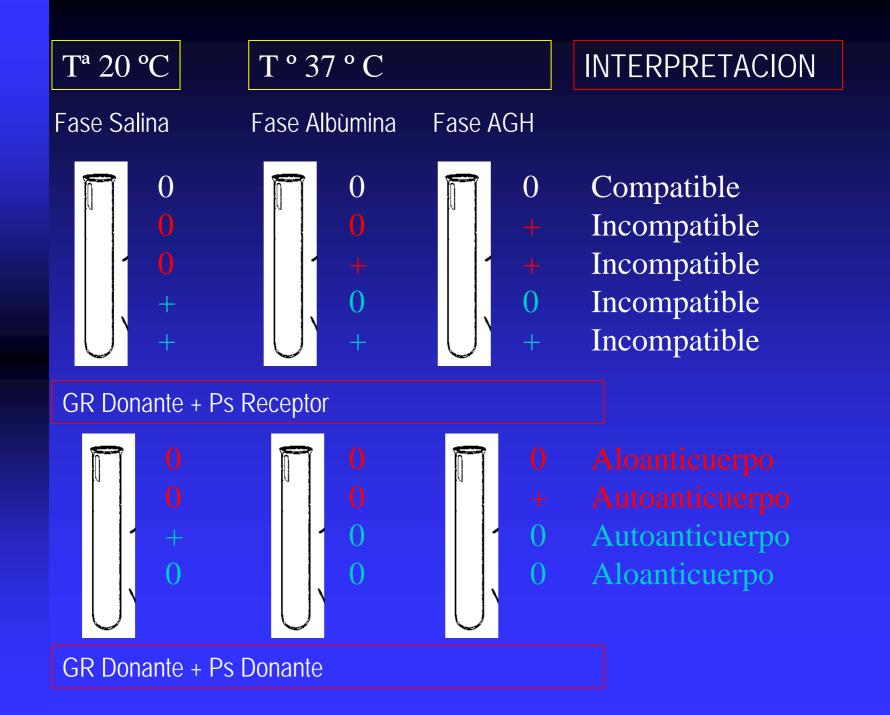
3ra Fase:

- T° corporal
- Con AGH (S.Coombs)
- Detecta Ac Incompletos.

RESOLUCION

- Ante una incompatibilidad es útil:
- Disponer de un manual de procedimientos.
- Personal capacitado
- 3. Recursos y reactivos necesarios.





Tipos de Anticuerpos

- Aloanticuerpo
- Autoanticuerpo
- Anticuerpo frío de poco significado clinico
- Anticuerpo frío de gran significado clinico
- Anticuerpo Caliente
- Anticuerpo bitèrmico

LOS ANTECEDENTES DEL PACIENTE SON IMPORTANTES



Ante una incompatibilidad es importante:

- 1. Estudio de la historia clinica del paciente:
- Gestaciones
- Transfusiones previas.
- Uso de Fármacos
- Enfermedad actual

LOS ANTECEDENTES DEL PACIENTE SON IMPORTANTES



 Son datos importantes: Edad, sexo, embarazos, raza, antecedentes transfusionales, medicamentos que este recibiendo.



GUIA DE TRABAJO

1. <u>Descartar la posibilidad de un error humano.</u>

Es importante asegurarse que las muestras que se cruzaron fueron las indicadas, que las anotaciones de la interpretación de los resultados fueron los correctos.

Si hay duda sobre estos resultados, debe repetirse todo el procedimiento.

		USIONAL Y PRUEB		FRBSORSTYPC
CONDICION: SIS () SOAT () PAGA	NTE() EXONERA	DO() CODIGO):	
		Hora en	rega muestra	
DATOS PERSONALES		110		
Ap Paterno Ao	Materno	Nombres		
Ap reamo Sexo M F Fold PROCEDENCIA HO EM PROCEDENCIA HO EM Unidad Renol Pedial Unidad Renol Hematisiopia Oncole ANTECEDENTES Transfusiones previor. St NO De Embaratos previor. St NO De DAGMOSTICO DE LA ENFERMEDA	Peso CE () OTROS ria () RN () Hidri agia () Ginecologia (sconocido () nocido ()	Nº H. Clinica SERVICIO stación () UCI Ped () Obstaticia () O	Med () M. Tropical () Cl) UCl Medicina () ClQ (tos	***************************************
TIPO DE PACIENTE Cruga Electiva () Cirugia de Errergi	encia () Anemia orb	nica () Anemia Aguda ()	
DATOS ACTUALES DEL PACIENTE HCD % Praquetas x P.Art merHg Pulso				
REQUERIMIENTO () Sangre total				Unidades
FECHA DE LA TRANSFUSION:				
Ap. Pat	Mat	. Nombres	CMP	
TIPO DE SOLICITUD: Muy Urgente (Sin prueba cruzada)	() Urgenti	() Programada ()
EGGS—FR12: CONSENTIMENTO II Yo, concedo autorización para que se tendido la oportundad de pregnata sol entendido la información que me diero transfusiones de sengre, plaquotas o inespersad, por ello eximo de toda rea que yo, mis hardedoro, dejectimos de está transfusión y cualquier consecue está transfusión y cualquier consecue.	me trasfunda la carti pre este procedimien esgos. También he te n referente al riesgo ilasma. Entiendo que ponsabilidad a esta i iministradores tenca iministradores tenca	nido oportunidad de de propagación de k durante o después e institución y a sus mi n o puedan tener en	nogarme a ser transfundido os virus del SIDA, Hepatitis de la transfusión pueda sufi embros ante cualquier tipo contra de cualquiera de ella	y otros, a través de ir una resoción de reclamo o demanda
FIRMA DEL RECEPTOR / PADRE / APO	DERADO HUE	LLA DIGITAL	FIRMA DEL MEDICO SOL	ICITANTE
UNIDADES PREPARADAS	Hote	<u>GS: 0</u>	- A1 - A2 - B - A1B - A2B	Rh: Pos - Neg
N° Fecha N°Bolsa Sello Seguridad	Componente G	S Personal que re	ira Hora	Personal que entrega
1	GIL-PIS-PG-CRIO			
2	GR-PS-PQ-CRIO			
3	GR-PE-PQ-CRIO			
4	GR-PS-PO-CRIO			
5	GR-PS-PQ-CRIO		1000	
6	GR-PS-PQ-CRO			
7	GR- PS- PG-CRIO			
8	GIL PS-PQ-CRIO			-
9	GR. PS-PQ-CHIO			

EG05-FR08 SOLICITUD TRANSFUSIONAL Y PRUEBA CRUZADA	FRBS08STYPC
CONDICION: SIS () SOAT () PAGANTE () EXONERADO () CODIGO :	
DATOS PERSONALES HO	
Ap. Paterno	S:
Sexo: M()F() Edad Peso N° H. Clinica CAMA PROCEDENCIA: HO()EM()CE()OTROS SERVICIO: Med()M. Tropical() Cirugia B()Traumatologia()Pediatria()RN()Hidratación()UCI Ped()UCI Medicina()CIQ Unidad Renal()Hematologia()Oncologia()Ginecologia()Obstetricia()Otros MATECEDENTES: Transfusiones previas: SI()NO()Desconocido() Reacciones adversas transfusionales previas: Embarazos previos: SI()NO()Desconocido() G PARA EHRN. SI()NO() DIAGNOSTICO DE LA ENFERMEDAD	() Trauma Shock () SI () NO ()
TIPO DE PACIENTE: Cirugia Electiva () Cirugia de Emergencia () Anemia crónica () Anemia Aguda (DATOS ACTUALES DEL PACIENTE: Conciente () Inconciente () Hoto::: " Plaquetas	
P.Art. mmHg Pulso x min Respiraciones x min Temperatura	°C
REQUERIMIENTO () Sangre total Unidades () PFC Unidades () Plaquetas () Glóbulos Rojos Unidades. () Crioprecipitado Unidades. () Observaciones	
FECHA DE LA TRANSFUSIÓN: HORA GUARDAR HASTA EL DIA	

TIPO DE SOLICITUD: Muy Urgente (Sin prueba cruzada) (

12: CONSENT	

Yo, concedo autorización para que se me trasfunda la cantidad necesaria de sangre y/o hemocomponentes. Certifico que he 10, concedo autorización para que se me trastunda la cantidad necesaria de sangre y/o nemocomponentes, certirico que ne tenido la oportunidad de preguntar sobre este procedimiento, que se me respondieron todas las preguntas que realicá y que entiendo lo que es y cuales son sus riesgos. También ha tenido oportunidad de negarme a ser transfundido. He revisado y entiendido la información que me dieron referente al riesgo de propagación de los vírus del SIDA, Hepatitis y otros, a través de transfusiones de sangre, plaquetas o plasma. Entiendo que durante o después de la transfusión pueda surfir una reacción procedente. inesperada, por ello eximo de toda responsabilidad a esta institución y a sus miembros ante cualquier tipo de reclamo o demanda que yo, mis herederos, ejecutores o administradores tengan o puedan tener en contra de cualquiera de ellos en lo que se refiere a esta transfusión y cualquier consecuencia como resultado directo o indirecto de ella.

FIRMA DEL RECEPTOR / PADRE / APODERADO DNI			DERADO	FIRMA DEL MEDICO SOLICITANTE HUELLA DIGITAL				
UNIDADE	S PREPA	RADAS	Hoto .		<u>GS</u> : O - A1 - A2 - B	~A1B - A2B	Rh: Pos - Neg	
Nº Fecha	N°Bolsa	Sello Seguridad	Componente	GS	Personal que retira	Hora	Personal que entrega	
1	100000		GR-PS-PQ-CRIO					
2			GR-PS-PQ-CRID					
3			GR-PS-PQ-CRIO					
4			GR-PS-PQ-CRIO					
5			GR-PS-PQ-CRIO					
6			GR- PS- PQ-CRIO					
7			GR- PS- PQ-CRIO					
8			GR- PS- PQ- CRIO					
AND DESCRIPTION OF THE PARTY OF	-			1	TO ARCTED AND ADDRESS OF THE PARTY OF THE PA			

GR- PS- PQ- CRIO

Revisar la **SOLICITUD TRANSFUSIONAL**

Urgente ()

Programada ()

2. En que fase de la prueba cruzada la reacción de aglutinación es la mas evidente



Siendo el control negativo.

- a) fase de aglutinación inmediata (Fase I)
- Incompatibilidad ABO
- Verificar el GS ABO del donante y del receptor.
- Que el receptor pueda ser A2 o A2B y contener un anti A1 en su suero.
- Se debe clasificar Lectina y verificar la especificidad del anticuerpo enfrentándolo con células A2.

	Fase 1	Fase 2 37°C	Fase 3 37°C
165 + MD C	3+		
AC	0		

b) Aglutinación en las Fases II y/o III (albumina y/o Antiglobulina)



Con
autocontrolnegativo:Sugieren lapresencia de un
aloanticuerpocaliente

	Fase 1	Fase	Fase 3
		2	37°C
		37°C	
265	0	0	2+
4+			
REC			
AC	0	0	0

3. Que porcentaje de UNIDADES DE SANGRE son incompatibles?



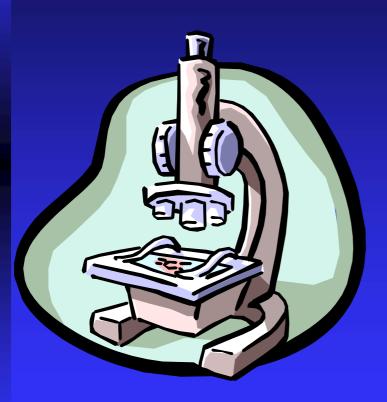
- a) Todas las pruebas cruzadas dan incompatible y el autocontrol negativo.
- Sugiere la presencia de un Ac. contra un Ag.de alta incidencia o multiples Ac.
- Se debe de identificar a los Ac y si fuera el caso de un Ac contra un Ag de alta incidencia se debe de cruzar el suero del paciente con aquellos hermanos y demas familiares cercanos que sean ABO compatibles.

b) Si una sola Unidad fue incompatible y el autocontrol es negativo

Esto sugiere:

- La presencia de un Ac contra un Ag de muy baja incidencia que solo está presente en los glóbulos rojos de ese donante.
- Quiza no podamos identificar el Ac. pero tenemos la facilidad de encontrar muchos donantes compatibles.
- El problema puede ser el donante.
- Realizar el Coombs directo y si es positivo la sangre no debe ser usada.

4. Todas las unidades son aglutinadas con la misma intensidad?



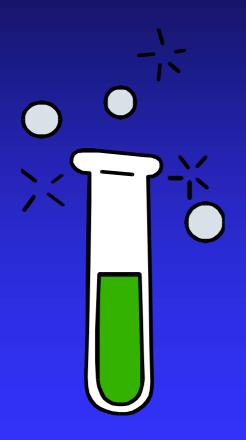
 Es importante estandarizar las lecturas y cuantificarlas en cruces.

a) Si la intensidad de la reacción no es igual en todas las unidades, sugiere:



- Una mezcla de Ac., cada uno con diferente potencia.
- Un panel dirigido nos ayudará a determinar la especificidad de estos Ac.
- Efecto de dosis: Ac anti M. antiC, antiE, anti e, anti Jk.

b) Si la intensidad de la reacción es uniformemente fuerte:



Puede
 corresponder a
 uno o más
 anticuerpos
 con alto título

5.- Prueba cruzada incompatible, autocontrol positivos y pantallas positivas.



- Sugiere la presencia de un AutoAc
- En muchas ocasiones, coinciden AutoAc. y aloAc., especialmente en aquellos pacientes politransfundidos.
- La importancia de identificar a los autoAc. es discutible, pero de los que no hay duda es de la importancia que reviste la identificación de los aloAc.
- Se deben realizar autoabsorciones del suero para remover los autoAc y realizar el estudio con el suero autoabsorvido y el eluido



6.- Tiene el receptor un Coombs directo positivo, con pantallas negativas?

Puede presentarse en:

- a). Pacientes con anemia hemolitica autoinmune, con un titulo de anticuerpo bajo como para poder ser detectado con las células pantallas, ya que todo el anticuerpo producido se fija inmediatamentea los G. R.
- En este caso la prueba cruzada sera compatible.
- Es necesario determinar el tipo de proteina presente en la membrana del G. R, usando reactivos monoespecíficos.



- b) Si el paciente ha sido transfundido previamente, puede tratarse de una reacción hemolítica tardía.
- c) Efecto de Drogas.
- He aquí la importancia del estudio de la historia clínica, se debe precisar si está recibiendo medicación, su dosis y el tiempo de tratamiento.

DROGAS IMPORTANTES:Penicilina, Cefalosporinas, Quinina; Quinidina, Aldomet.

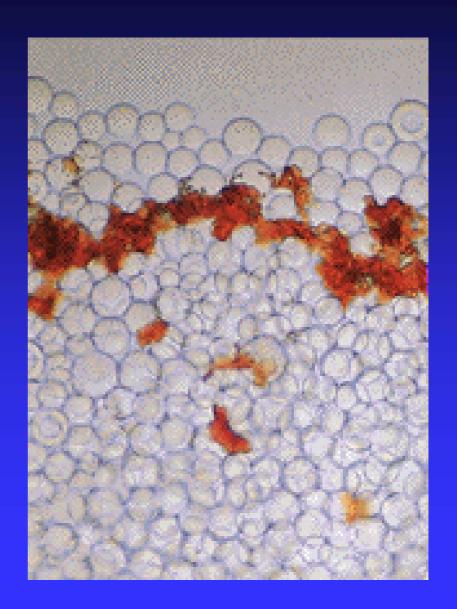


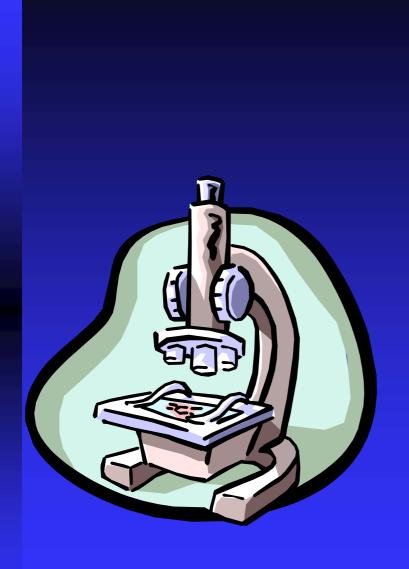
7.- La prueba cruzada es incompatible en las tres fases, con autocontrol negativo.

- Esto sugiere:
- Mezcla de anticuerpo frios y calientes.
- Un anticuerpo frio que fija complemento, con amplio rango térmico de actividad.
- Se deben realizar las células pantallas como los paneles paralelamente a 37°C y en frío (16° a 20°C).
- Las PC se deben realizar en caliente y si se demostrò la presencia de un Ac frío no se debe de usar albúmina ya que esta potencia la reactividad de ellos

PC Positivo 3+









Consideraciones Clinicas:

En el paciente con una prueba cruzada incompatible:

- ? La transfusión es realmente necesaria.
- ? El anticuerpo es clínicamente significativo.
- ? Cómo va a ser administrada la transfusión.

ANTICUERPOS REGULARES

Presencia esperada

GS ABO

Ag Ac

Anti A y Anti B

Anti B

B Anti A

AB Ningun Ac



ANTICUERPOS IREGULARES

Presencia patológica Aloinmunización

Ac. Con Significado clínico

Ac. que Actuan hasta 37 °C

Ac.Sin significado clínico

Ac. Frios de Bajo rango Térmico.

PREVALENCIA DE AC. IREGULARES

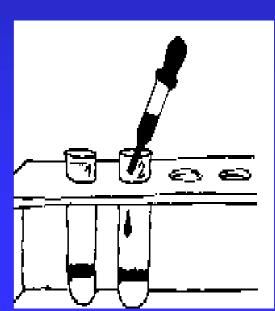
Prevalencia: 0.3 % a 2.8 %

Mujeres

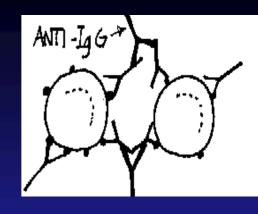
Con antecedente de embarazo: 1.0 %

Con antec. Embarazo transfusión: 2.8 %

MultitransfundidosMayores de 60 años:Ab.múltiples.



Prevalencia de Anticuerpos Irregulares



- Hemodializados
- India: 9.8 %: Rh, Kell 88 %
- **EEUUNA:** 6.7 %
- Perú: HNGA 3 % : anti K
- Peru: HNCH: 3/26 (7%): Anti E, Anti N, NI
- Pruebas Cruzadas incompatibles:
- Perú: HNGA: 0.11 %: AntiE

Especificidad de AutoAc en AHA

<u>AHA</u> <u>Ag</u>

Por AcCalientes Sist Rh, LW,U,Wr,K.

anemia hemolítica por anticuerpos calientes

Por AcFrios Anti i, I, Pr.

enfermedad por crioaglutininas

Por Ac Landsteiner Anti P

Hemoglobinuria paroxistica al frio

Liberación de unidades según la situación clinica

SEXO	Antecedentes		Situaci	Prueba Cruzada		
	Transf usiòn	Embar azo	òn Clìnica	Salina	LISS Coombs	Alb + AGH
F	NO	NO	Urgente	X		
	NO	NO	Electiva	X	X	X
F	SI	SI	Urgente	X		
	SI	SI	Electiva	X	X	X
M	NO	-	Urgente	X		
M	SI	-	Electiva	X	X	X
Ambos	Desconocido		Urgente	X		
			Electivo	X	X	X

CONCLUSIONES

- Frente a una Prueba Cruzada Incompatible descartarse un error tècnico y repetirse todas las pruebas de compatibilidad
- Determinar el comportamiento tèrmico del anticuerpo completo.
 - ◆ Prueba Cruzada en tubo
 - ◆ Cèlulas Pantalla.
- La identificación de Ac se realiza con cèlulas Panel.

CONCLUSIONES

- Es necesario establecer mediante el uso del microscopio si se trata de una verdadera aglutinación, un fenòmeno rouleaux.
- Los resultados negativos deben verificarse al microscopio y con el suero Control de Coombs.

