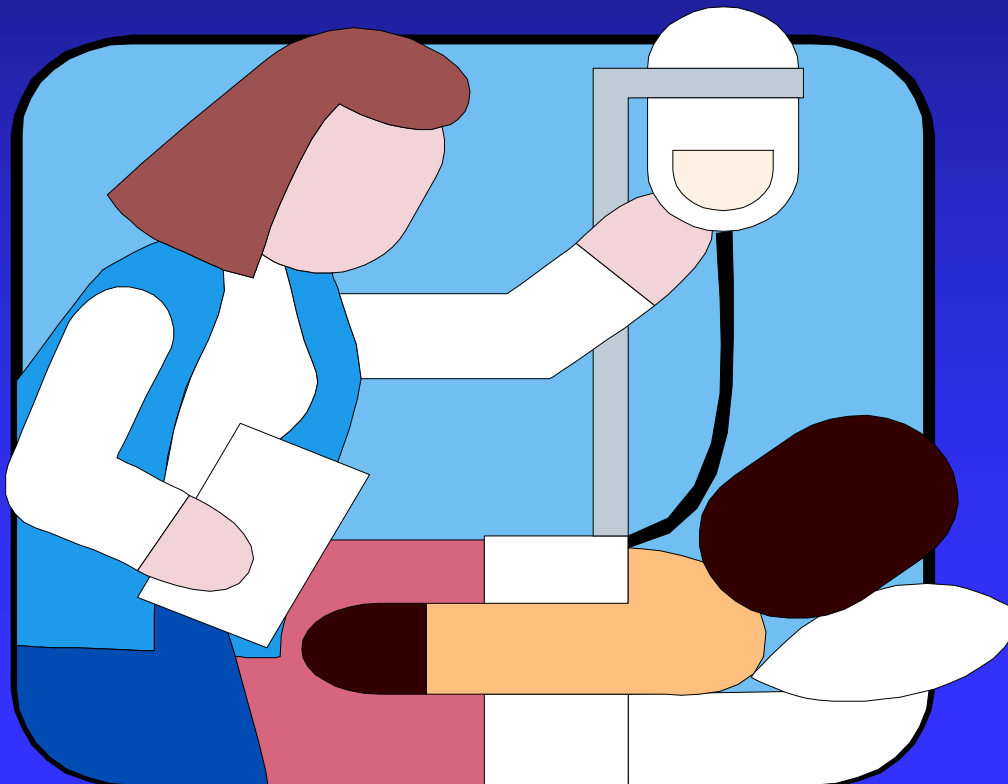


PRUEBA CRUZADA

Detección de Anticuerpos irregulares



*Dr. Julio A. Vidal
Escudero*

Reacciòn adversa transfusional: Reacciòn 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”.

Transfusión 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, extraída de su esposo.

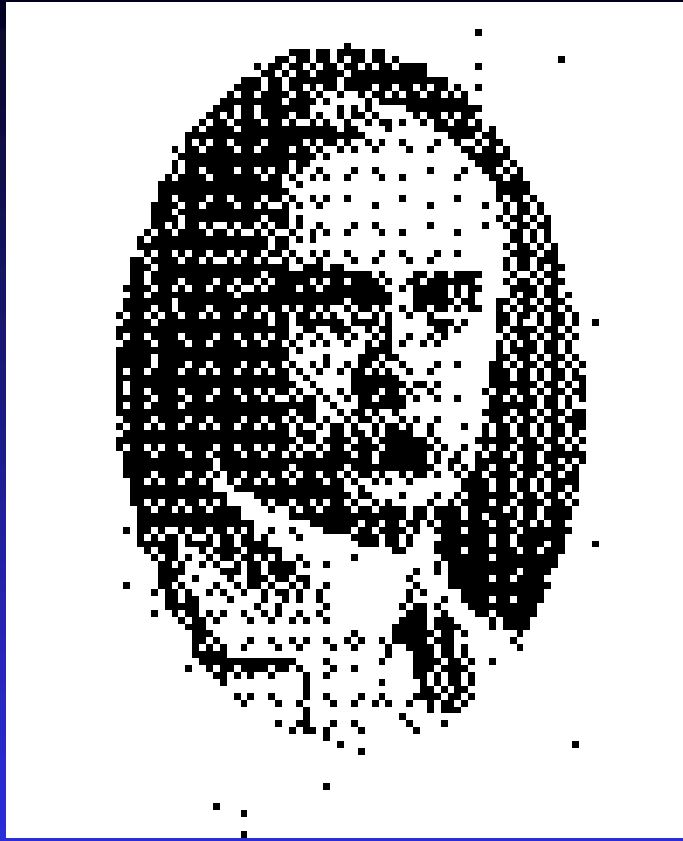
Recogía la sangre de vena mediante una cánula , la sangre se depositaba en un pequeño embudo y pasaba a la vena por gravedad

Transfusión de Sangre a Daniel Alcides Carrión: *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 ($1\ 085,000 \times \text{mm}^3$). Se plantea realizarle una transfusión de sangre y se le traslada a la Clínica Maison de Sante.

Transfusión de Sangre a Daniel Alcides Carrión: *Sopesando Riesgo - Beneficio*

- Carrión acepta la transfusión. Uno de sus condiscípulos acepta donar su sangre.
- Una Junta Médica 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).

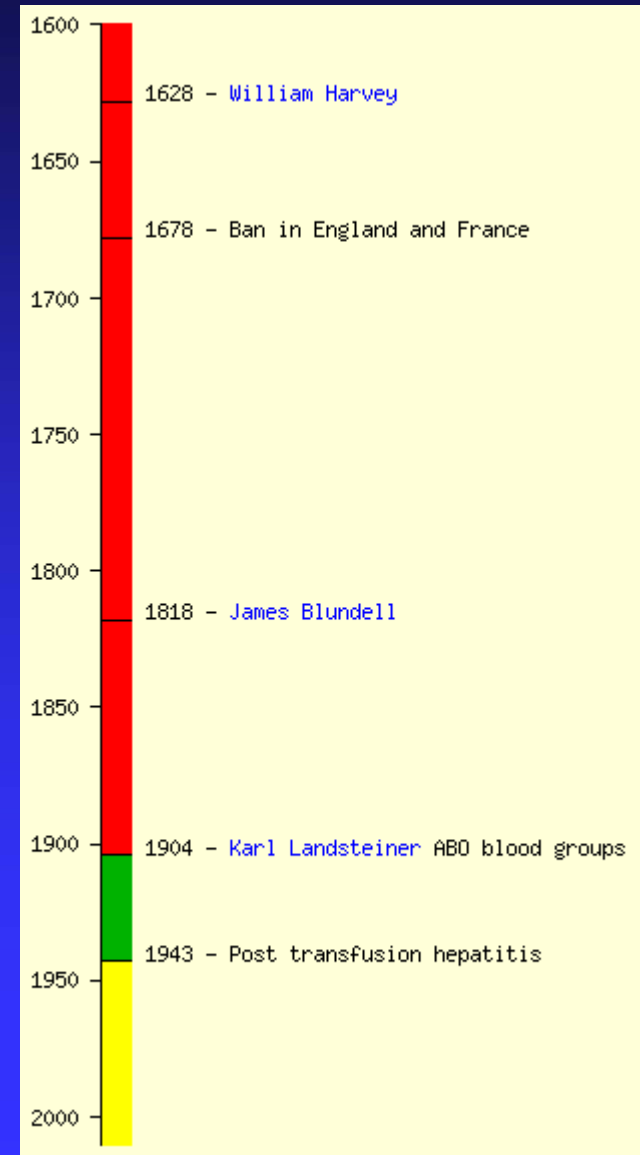


En el Perú la primera transfusión la realizó el Médico italiano J.Copello, el año 1867, con la técnica “brazo a brazo”.

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

El Siglo XX

- Ludwig Hektoen (1907)
 - ◆ Prueba Cruzada
- Richard Weil & Ruben Ottenberg (1907)
 - ◆ Primeros tipeajes antes de trasfudir
 - ◆ Reconocen la utilidad de donantes tipo “O”



Transfusión de Sangre en el Perú

- E Dr. Oscar Guzman del Villar organizò los primeros servicios transfusionales en el Perú: en el Hosp. Militar San Bartolomé y luego en el Hosp. Arzobispo Loayza (1929).
- El año 1932 los médicos residentes del H.A.Loayza informan que “habiendo sido suprimida la plaza de médico transfusor, hemos realizado todas las transfusiones solicitadas. En esta tarea nos ha ayudado eficazmente el personal de Laboratorio, aunque debemos decirlo, su falta no habría sido obstáculo para realizarlas, ya que conocemos la técnica 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 %
- Reacción Ag – Ac: 12 %
- No identificable: 50 %

Transfusion. 2002; 42: 1356-64.

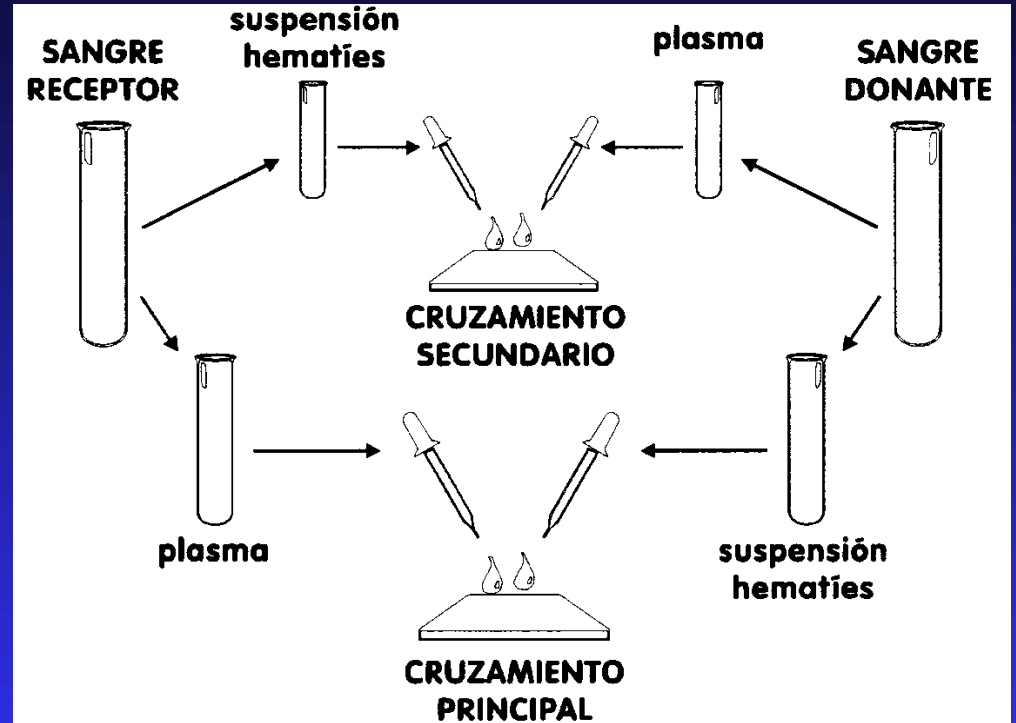
Pruebas de Compatibilidad

1. G.S. ABO Detección Ag A y B
 Detección Ac Regulares
2. 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

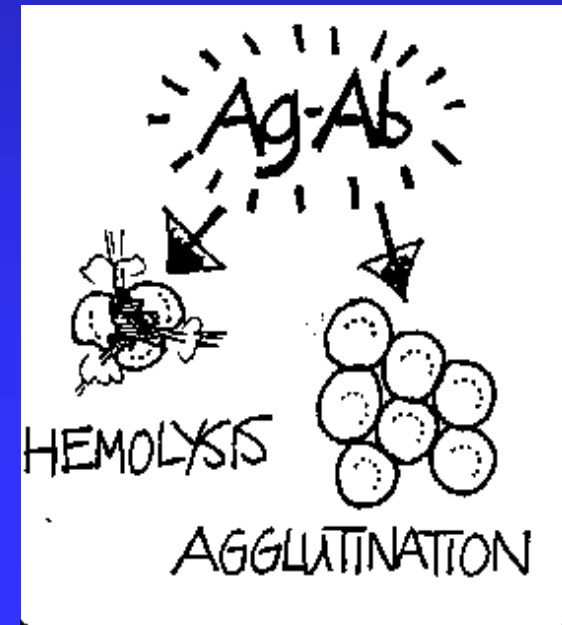


Ludwig Hektoen (1907)




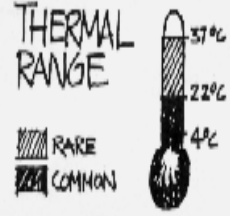
PRUEBA CRUZADA

- 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.

| ANTI-A ₁ | |
|--|---|
| CLINICALLY SIGNIFICANT SOMETIMES | ANTIBODY CLASS  |
| THERMAL RANGE  RARE COMMON | H.D.N.B. No |

2da Fase:

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

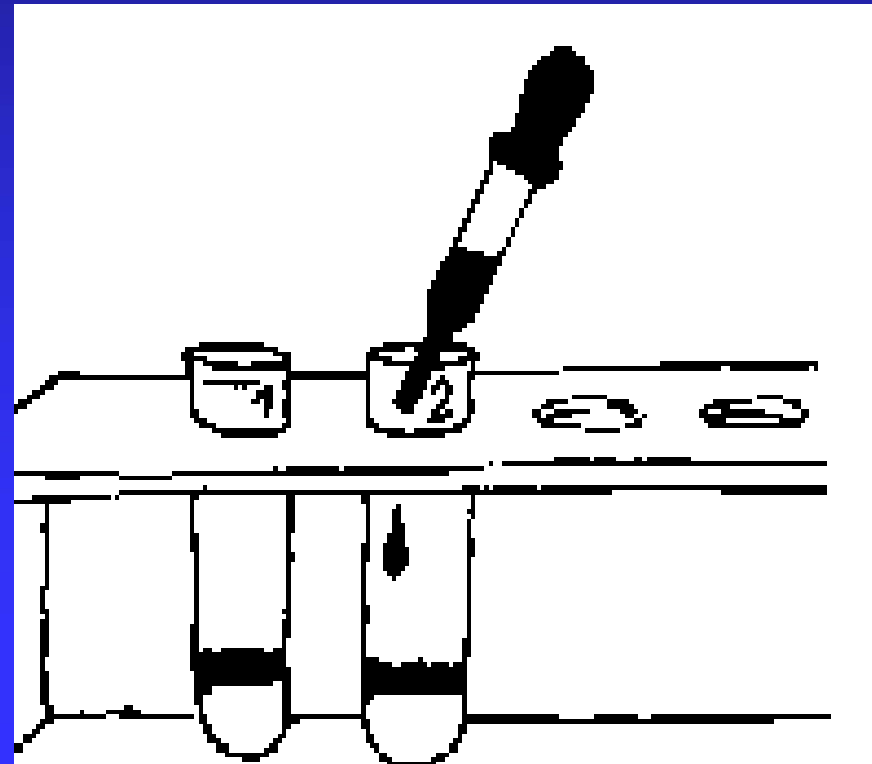
| | |
|--|--|
| CLINICALLY SIGNIFICANT YES | ANTIBODY CLASS  |
| THERMAL RANGE  RARE COMMON | H.D.N.B.  |

3ra Fase:

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

RESOLUCION

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



T^a 20 °C

T ° 37 ° C

INTERPRETACION

Fase Salina

Fase Albùmina

Fase AGH



0
0
0
+
+



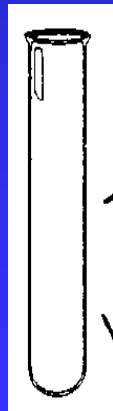
0
0
+
0
+



0
+
+
0
+

Compatible
Incompatible
Incompatible
Incompatible
Incompatible

GR Donante + Ps Receptor



0
0
+
0



0
0
0
0



0
+
0
0

Aloanticuerpo
Autoanticuerpo
Autoanticuerpo
Aloanticuerpo

GR Donante + Ps Donante

Tipos de Anticuerpos

- Aloanticuerpo
- Autoanticuerpo
- Anticuerpo frío de poco significado clínico
- Anticuerpo frío de gran significado clínico
- Anticuerpo Caliente
- Anticuerpo bitérmico

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. Descartar la posibilidad de un error humano.

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.

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 autocontrol negativo: Sugieren la presencia de un aloanticuerpo caliente

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

3. Que porcentaje de UNIDADES DE SANGRE son incompatibles?



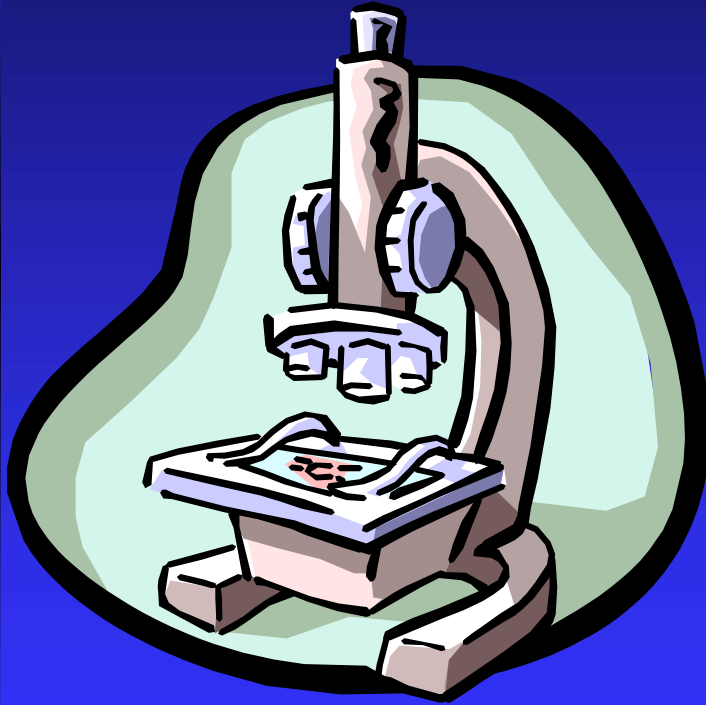
- a) Todas las pruebas cruzadas dan incompatible y el autocontrol negativo.
- Sugiere la presencia de un Ac. contra un Ag. de alta incidencia o multiples Ac.
 - Se debe de identificar a los Ac y si fuera el caso de un Ac contra un Ag de alta incidencia se debe de cruzar el suero del paciente con aquellos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



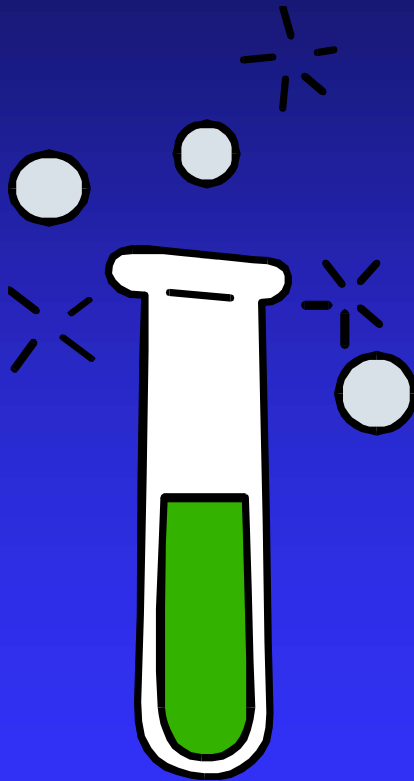
- Es importante estandarizar las lecturas y cuantificarlas en cruces.

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 hemolítica autoinmune, con un título de anticuerpo bajo como para poder ser detectado con las células pantallas, ya que todo el anticuerpo producido se fija inmediatamente a los G. R.
 - En este caso la prueba cruzada será compatible.
 - Es necesario determinar el tipo de proteína 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.

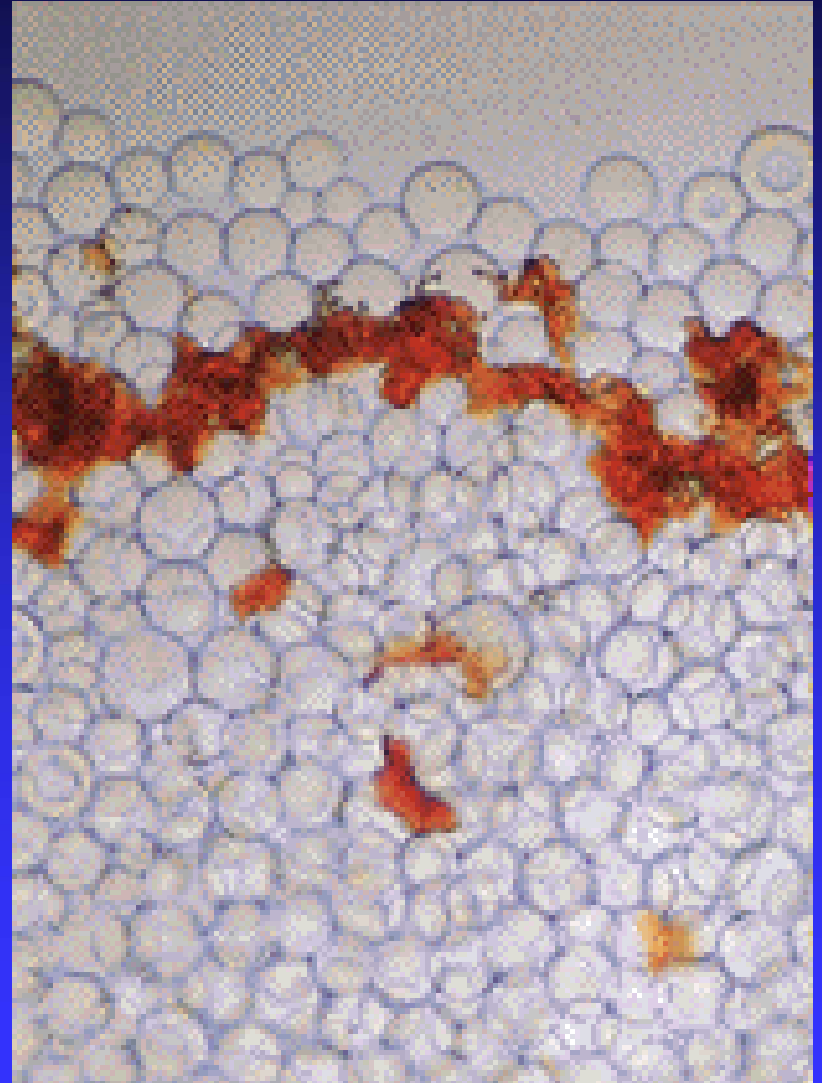
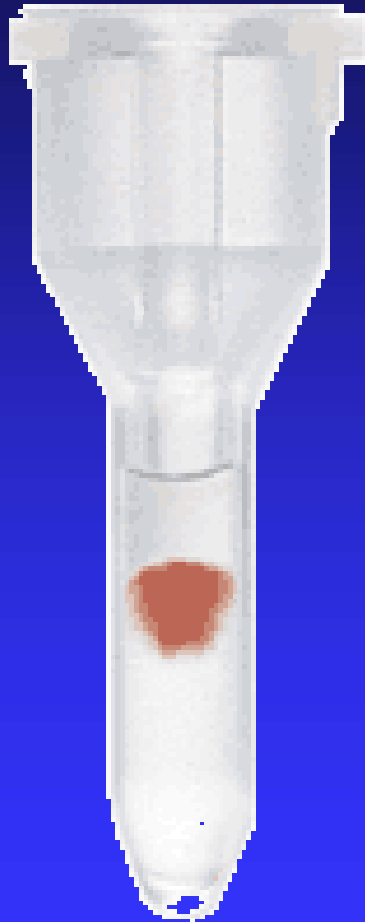
DROGAS IMPORTANTES: Penicilina, Cefalosporinas, Quinina; Quinidina, Aldomet.

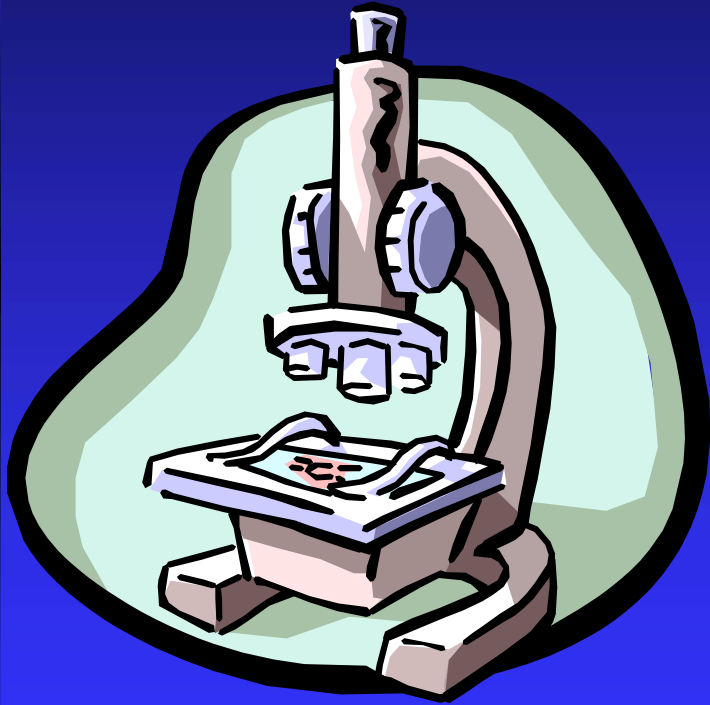


7.- La prueba cruzada es incompatible en las tres fases, con autocontrol negativo.

- Esto sugiere:
- Mezcla de anticuerpo fríos y calientes.
- Un anticuerpo frío 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 Clínicas:

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

O

A

B

AB

Ac

Anti A y Anti B

Anti B

Anti A

Ningun Ac



ANTICUERPOS IREGULARES



Presencia patológica

Aloinmunización



Ac. Con

Significado clínico



Ac. que Actuan hasta 37 °C



Ac. Sin

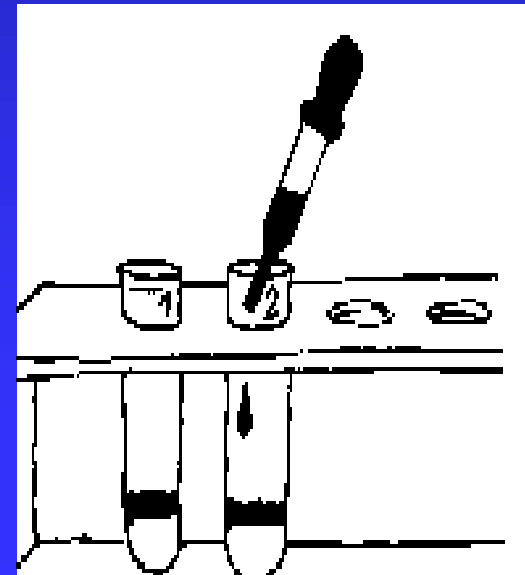
significado clínico



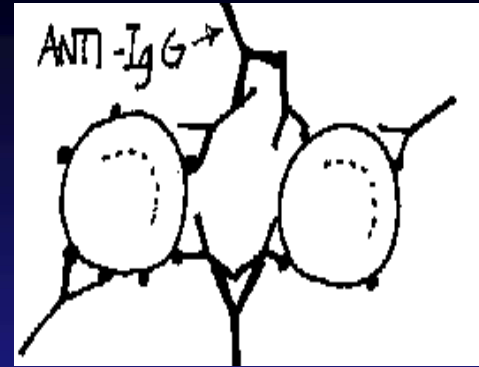
Ac. Frios de Bajo rango Térmico.

PREVALENCIA DE AC. IREGULARES

- Prevalencia: 0.3 % a 2.8 %
- Mujeres
 - Con antecedente de embarazo: 1.0 %
 - Con antec. Embarazo transfusión: 2.8 %
- Multitransfundidos
 - Mayores de 60 años: Ab.múltiples.



Prevalencia de Anticuerpos Irregulares



■ Hemodializados

■ India: 9.8 % : Rh, Kell 88 %

■ EEUUANA: 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

AHA

Ag

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 paroxística al frío

Liberación de unidades según la situación clínica

| SEXO | Antecedentes | | Situación Clínica | Prueba Cruzada | | |
|-------|--------------|----------|-------------------|----------------|-------------|-----------|
| | Transfusión | Embarazo | | 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 identificaciòn de Ac se realiza con cèlulas Panel.

CONCLUSIONES

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

