

Detección de anticuerpos eritrocitarios con las técnicas de polietilenglicol y polibreno en pacientes politransfundidos

Erythrocytary antibody detection in polytransfused patients using polyethylene glycol and polybrene

Meilin Miralles Carty^I, Norma Fernández–Delgado^I, Antonio Bencomo-Hernández^I, Alexei Martínez-Martínez^I, Raquel Levón–Herrera^{II}

^I Instituto de Hematología e Inmunología, La Habana, Cuba.

^{II} Facultad de Ciencias Medicas “Dr Enrique Cabrera”, La Habana, Cuba.

RESUMEN

Uno de los aspectos más importantes de la práctica inmunohematológica es la detección e identificación de anticuerpos, ya que la respuesta de aloanticuerpos contra aloantígenos eritrocitarios es una complicación frecuente de la transfusión. Para detectar la presencia de anticuerpos en el suero de los pacientes existen diferentes métodos que varían en su sensibilidad. Se realizó un estudio prospectivo, transversal que incluyó a todos los pacientes politransfundidos con concentrado de eritrocitos en el Instituto de Hematología e Inmunología en un período de un año, con el objetivo de detectar los aloanticuerpos eritrocitarios que pudieran causar reacción transfusional. Se consideraron politransfundidos aquellos pacientes con más de 2 momentos transfusionales. La muestra estuvo constituida por 151 pacientes. Se emplearon las técnicas manuales de polibreno y la de polietilenglicol-antiglobulina. En 28 casos (18,5 %) se detectó la presencia de anticuerpos; de estos, 24 en polietilenglicol (85,7 %) y 6 (21,4 %) en polibreno. La comparación demostró que el polietilenglicol fue el de mayor sensibilidad en la detección de anticuerpos aunque detectó autoanticuerpos sin relevancia transfusional en el 22 % de los casos.

Palabras clave: pruebas pretransfusionales, pesquisa de anticuerpos, polietilenglicol, polibreno.

ABSTRACT

One of the most important aspects of immunohematological practice is the detection and identification of antibodies, and the production of alloantibodies against red cell antigens is a frequent complication of transfusion. There are several methods with a different level of sensitivity to detect the presence of antibodies in the serum of transfused patients. A prospective, cross-sectional study was performed including all patients polytransfused with packed red cells at the Institute of Hematology and Immunology in the period of one year, in order to detect red cell alloantibodies that could cause transfusion reaction. We considered polytransfused patients with transfusions over 2 times. The sample consisted of 151 patients. The manual polybrene test and the polyethylene glycol-antiglobulin test were used. In 28 cases (18.5%) the presence of antibodies was detected. Cross tests were positive for 11 patients (39.28%), the investigation of antibodies by polyethylene glycol in 85.7% (24 patients), and polybrene in 6 patients (21.4%). The comparison showed that polyethylene glycol was the most sensitive in the detection of antibodies even when autoantibodies with no transfusional relevance were detected in 22% of the patients.

Keywords: pre-transfusion tests, antibody screening, polyethylene, polybrene.

INTRODUCCIÓN

El sistema ABO es el *primer sistema de grupo sanguíneo* humano descubierto por Landsteiner en 1900 como resultado de mezclar la sangre de diferentes individuos, donde encontró que algunas muestras se mezclaban sin signos apreciables de reacción, pero en otras se producía aglutinación. Este hecho lo atribuyó a la presencia de antígenos en los eritrocitos y de anticuerpos en el suero de estos individuos.¹

Uno de los aspectos más importantes de la práctica inmunohematológica es la detección e identificación de anticuerpos, ya que la producción de aloanticuerpos contra antígenos eritrocitarios es una complicación frecuente de la transfusión.^{2,3} El riesgo de aloinmunización se incrementa con las transfusiones repetidas de concentrado de eritrocitos alogénicos y se estima que entre el 20 y el 60 % de los pacientes en régimen de transfusión crónica producen aloanticuerpos.^{4,5}

Los aloanticuerpos eritrocitarios distintos de los anti-A o anti-B se denominan irregulares y pueden hallarse en el 0,3 al 38 % de la población, según el grupo estudiado y la sensibilidad de los métodos de pesquisa utilizados.^{6,7} La prueba cruzada (PC) tiene como objetivo garantizar la compatibilidad inmunológica entre donante-receptor.^{8,9}

La técnica por excelencia para la detección e identificación de anticuerpos eritrocitarios es la prueba de antiglobulina o Coombs. Aunque este proceder se considera de gran sensibilidad, un resultado negativo no excluye la presencia de anticuerpos. Se han reportado casos de pacientes aloinmunizados en los cuales los anticuerpos no han sido detectados en el momento de la transfusión.¹⁰

En inmunohematología se emplean otros métodos para detectar la presencia de anticuerpos en el suero de los pacientes, que no son aplicados de rutina en las pruebas pretransfusionales. Estos métodos tienen una mayor sensibilidad y muchos emplean aditivos para potenciar la reacción antígeno- anticuerpo.¹¹

Los objetivos del trabajo fueron: evaluar la seguridad del protocolo pretransfusional en la detección de anticuerpos eritrocitarios y la pesquisa de anticuerpos eritrocitarios con el empleo del polibreno y del polietilenglicol como agentes modificadores de la reacción de aglutinación.

MÉTODOS

Se incluyeron 151 pacientes transfundidos con concentrado de eritrocitos en el servicio de transfusiones del Instituto de Hematología e Inmunología, en 2 o más ocasiones (politransfundidos) en un periodo de un año, quienes dieron su consentimiento para que se les realizara la detección de anticuerpos irregulares en el suero. Fueron empleados, además de las pruebas cruzadas, la pesquisa de anticuerpos (PA) por la técnica manual de polibreno (TMP) y la de polietilenglicol-antiglobulina (PEG).⁸ Para la comparación entre los métodos de pesquisa empleados, se utilizó la prueba de Chi cuadrado, considerando significativo un valor de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Del total de pacientes politransfundidos estudiados, en el 18,5 % ($n = 28$) se detectó la presencia de anticuerpos. De ellos, solo en 11 pacientes (39,28 %) fueron detectados por las PC habituales (Coombs y salina).

Al analizar los resultados del PA contra el resultado de las PC se encontró que el polibreno no fue capaz de detectar ningún caso positivo por sí solo. Sin embargo, apoyó el resultado de las PC en 6 casos (21,4 %) (Tabla 1). En la tabla 2 se observa que el PA fue positivo con PEG en el 85,7 % ($n = 24$) de los aloinmunizados, de los que en el 60,7 % ($n = 17$) la PC fue negativa ($p = 0,00$). La comparación entre los dos métodos mostró la superioridad del PEG sobre el polibreno ($p = 0,00$) (Tabla 3).

Tabla 1. Comparación entre prueba cruzada y pesquisa de anticuerpos por polibreno

Polibreno	Prueba cruzada				Total	%
	+	%	-	%		
+	6	3,97	0	0	6	3,97
-	5	3,31	140	92,71	145	96,03
Total	11	7,28	140	92,71	151	100

$p = 0,00$

Leyenda: +: positivo; -: negativo

Tabla 2. Comparación entre prueba cruzada y pesquisa de anticuerpos por polietilén glicol (PEG)

PEG	Prueba cruzada				Total	%
	+	%	-	%		
+	7	4,63	17	11,25	24	15,89
-	4	2,65	123	81,45	127	84,11
Total	11	7,28	140	92,7	151	100

p= 0,00

Leyenda: +: positivo; -: negativo

Tabla 3. Comparación entre los métodos de pesquisa de anticuerpos

PEG	Polibreno				Total	%
	+	%	-	%		
+	4	2,64	20	13,24	24	15,89
-	2	1,32	125	82,78	127	84,11
Total	6	3,96	145	96,02	151	100

p= 0,00

Leyenda: +: positivo; -: negativo

Todas las muestras de los pacientes positivos fueron enviadas al laboratorio de Inmunoematología para realizarles el estudio de especificidad de anticuerpos. En el estudio se detectaron 36 anticuerpos irregulares correspondientes a las siguientes especificidades: 12 al sistema Rh, 4 al sistema Kell, 1 al sistema Lewis, 3 al sistema Duffy, 2 al sistema Kidd, 1 al sistema MNS, 2 dirigidos contra antígenos HLA, 3 de especificidad no definida y en 8 pacientes se detectaron autoanticuerpos. En 5 pacientes se detectó la existencia de anticuerpos de más de una especificidad y en 4 casos se asociaron con anti-RhE.

DISCUSIÓN

El objetivo del PA es detectar anticuerpos que puedan causar destrucción acelerada de los eritrocitos alogénicos transfundidos. Los anticuerpos clínicamente significativos pueden ser detectados por varios métodos.⁸

La comparación de los métodos de PA demostró que el PEG detectó por sí solo más anticuerpos que el polibreno, con una diferencia estadísticamente significativa. Esto coincide con los resultados a los que han arribado otros autores¹² y demuestra que el PEG es un método más sensible, debido a que es un polímero hidrofílico que desplaza el agua del medio de la reacción y concentra los anticuerpos alrededor de los eritrocitos, lo que favorece la reacción antígeno-anticuerpo.¹¹

Algunos investigadores plantean que la elevada sensibilidad de un método *in vitro* en ocasiones no es deseada, pues detecta anticuerpos sin significación clínica y esto incrementa el trabajo y los costos en los servicios de medicina transfusional.¹³ Como se demostró en este trabajo, esta técnica detectó autoanticuerpos en un porcentaje elevado de pacientes considerados no clínicamente significativos para la transfusión, por lo que su introducción en el protocolo pretransfusional de rutina no es recomendado. El PEG aumenta la avididad de unión al antígeno, la técnica que usa este método incrementa la reactividad de muchos aloanticuerpos no demostrables por los procedimientos habituales y es más efectiva que otros métodos para los estudios de anticuerpos, lo que la convierte en un proceder a elegir para la detección de anticuerpos eritrocitarios en bajas concentraciones, en los estudios de aloinmunización realizados en el seguimiento de pacientes politransfundidos.¹²

La utilización de métodos no convencionales de pesquisa de anticuerpos eritrocitarios proporciona un mejor aseguramiento inmunológico de la transfusión.¹⁴ Los datos actuales sugieren que no existe un método ideal para detectar anticuerpos y que el incremento en la sensibilidad de las pruebas de detección e identificación de anticuerpos conlleva un mayor grado de compatibilidad inmunológica entre el donante y el receptor, una disminución en la incidencia de reacciones transfusionales y un rendimiento transfusional óptimo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hillyer CD. Blood Banking and Transfusion Medicine – History, Industry, and Discipline. 2^{da} ed. Amsterdam: Elsevier, 2013. p. 117-26. doi.org/10.1016/B978-0-12-397164-7.00019-7.
2. Emery M. Blood and Blood Components. In: Marx JA, Hockberger RS, Walls RM, Biers MH, Danzel DF, Gausche-Hill M, et al. eds. Rosen's Emergency Medicine Concepts and Clinical Practice. 8th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2014. p. 75-80.
3. Zimring JC, Cadwell CM, Spitalnik SL. Antigen Loss From Antibody-Coated Red Blood Cells. *Transf Med Rev*. 2009; 23(3):189-204.
4. Pham JC, Haut ER, Catlett CL, Berenholtz SM. Association of allogeneic red-blood cell transfusion with surgeon case-volume. *J Surg Res*. 2012 Mar; 173(1):135-44. doi: 10.1016/j.jss.2010.08.030.
5. Natukunda B, Brand A, Schonewille H. Red blood cell alloimmunization from an African perspective. *Curr Opin Hematol*. 2010 Nov; 17(6):565-70. doi: 10.1097/MOH.0b013e32833ec54b.
6. Reacciones antígeno-anticuerpo eritrocitarias y su detección. En: Asociación Argentina de Hemoterapia e Inmunología. Manual técnico. 12 ed. Buenos Aires: Edigraf SA; 1997. p. 211-25.
7. Westhoff CM, Storry JR, Shaz BH. Human Blood Group Antigens and Antibodies. In: Hoffman, Benz E J, Silberstein LE, Heslop H E, Weitz JI, Anastasi J, eds. *Hematology: Basic Principles and Practice*, 6^{ta} ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2013. p. 1628-41.
8. Evanovitch D. A primer in pretransfusion testing. *Transfus Apher Sci*. 2012 Jun; 46(3):281-6. doi: 10.1016/j.transci.2012.03.017.

9. Epps JL, Craft R. Type, screen, and crossmatch of red blood cells. Philadelphia: Elsevier Saunders. 2014. p. 230-1.
10. Vickers M and Barker RN. Autoimmune Hemolytic Anemia. In: Rose NR, Mackay IR, eds. The Autoimmune Diseases. 5th ed. San Diego: Elsevier; 2014. p. 649-61.
11. Sadiqa K. Pretransfusion Testing. Transfusion Medicine and Hemostasis: 2^{da} ed. Amsterdam: Elsevier, 2013. p. 117-26. doi.org/10.1016/B978-0-12-397164-7.00019-7.
12. Klein HG, Anstee DJ. Mollison's Blood Transfusion in Clinical Medicine. 12th ed. Oxford: Wiley Blackwell; 2014. p: 303-55.
13. Combs MR, Bredehoeft SJ. Selecting an acceptable and safe antibody detection test can present a dilemma. Immunohematology 2001; 17:86-89.
14. Shulman IA, Maffei LM, Downes KA. North American pretransfusion testing practices, 2001-2004: results from the College of American Pathologists Interlaboratory Comparison Program survey data, 2001-2004. Arch Pathol Lab Med. 2005; 129:984-9.

Recibido: julio 24, 2015.

Aceptado: agosto 17, 2015.

Meilin Miralles Carty. Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado 8070, La Habana, CP 10800, CUBA. Tel (537) 643 8695, 8268
Email: rchematologia@infomed.sld.cu