



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**RELEVANCIA CLÍNICA DE LOS TÍTULOS DE ANTICUERPOS NATURALES
DEL SISTEMA ABO EN DONANTES DE SANGRE**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO
DE LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA**

**AUTORA: ANA MARÍA RIVERA VERGARA
PROFESORA GUÍA: TM. Mg Cs. MARCELA VÁSQUEZ ROJAS**

**TALCA-CHILE
2022**

CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2023

ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN	5
INTRODUCCIÓN	6
OBJETIVOS	7
1. OBJETIVO GENERAL.....	7
2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	7
METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA Y ORGANIZACIÓN DE LA INFORMACIÓN	8
MARCO TEÓRICO.....	9
1. INTRODUCCIÓN AL SISTEMA SANGUÍNEO ABO	9
1.1 Antígenos del sistema ABO	9
1.2 Anticuerpos del sistema ABO	12
2. IMPORTANCIA CLÍNICA DE LOS ANTICUERPOS ABO.....	15
2.1 Incompatibilidad Mayor en el sistema ABO	15
2.2 Incompatibilidad Menor en el sistema ABO	16
3. SITUACIONES CLÍNICAS EN QUE SE TRANSFUNDEN HEMOCOMPONENTES GRUPO O EN RECEPTORES NO ISOGRUPO	20
3.1 Tendencia en el uso de sangre total en receptores no isogrupo	20
3.2 Uso de plaquetas grupo O obtenidas por aféresis en receptores no isogrupo 26	
3.3 Producción de inmunoglobulinas endovenosas	30
4. VALORES CRÍTICOS DE ANTICUERPOS NATURALES PARA TRANSFUSIONES DE COMPONENTES PLASMÁTICOS GRUPO O EN RECEPTORES NO ISOGRUPO:.....	34
4.1 Transfusión de plaquetas obtenidas por aféresis y sangre total	34
5. FACTORES QUE AFECTAN EL TÍTULO DE ANTICUERPOS NATURALES ABO O DE OTROS SISTEMAS	38
6. MÉTODOS DE CUANTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS NATURALES DEL SISTEMA ABO.....	47

6.1	Titulación de anticuerpos naturales anti-A y anti-B isotipo IgM	49
6.2	Titulación de anticuerpos naturales anti-A y anti-B isotipo IgG.....	50
6.3	Técnica de titulación en gel	51
6.4	Citometría de Flujo	55
6.5	Técnica de adherencia de glóbulos rojos en fase sólida	58
	CONCLUSIONES.....	60

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Figura 1. Síntesis de los antígenos del sistema ABO.	10
Tabla 1. Frecuencia aproximada de los grupos sanguíneos del sistema ABO según zona geográfica (continente y/o país).	12
Figura 2. Fisiopatología de la incompatibilidad mayor y menor en el sistema ABO. ..	17
Tabla 2. Resumen de los estudios mencionados y sus principales aportes.	24
Figura 3. Fundamento de la cromatografía de inmunoafinidad aplicada a la fabricación de inmunoglobulina intravenosa.	33
Tabla 3. Resumen de los valores de corte definidos como título crítico para anti-A y anti-B por diferentes autores.	37
Figura 4. Efecto de los probióticos en la síntesis de anticuerpos del sistema ABO.	39
Figura 5. Estructura del antígeno A y del polisacárido capsular de S. pneumoniae serotipo 14.	45
Figura 6. Técnica de titulación en tubo.	49
Tabla 4. Comparación entre la técnica de aglutinación en gel y la prueba en tubo convencional.	55
Tabla 5. Comparación de métodos de cuantificación de anticuerpos naturales en diversos estudios.	59

RESUMEN

La transfusión sanguínea es una terapia vital para una serie de situaciones clínicas, ya sea de carácter crónica o urgente. Es una terapia que no se encuentra exenta de riesgos, existiendo la posibilidad de producirse diversas reacciones adversas, una de las cuales corresponde a las reacciones hemolíticas producto de incompatibilidades menores, en situaciones en las cuales está permitida la administración de hemocomponentes no isogrupo.

El sistema sanguíneo ABO, inicialmente descrito por Karl Landsteiner en 1900, sigue siendo el sistema de grupo sanguíneo más importante en la medicina transfusional. Este sistema se caracteriza por la presencia de anticuerpos naturales, dirigidos hacia los antígenos ABO ausentes en la persona. La mayoría de las reacciones transfusionales hemolíticas se pueden atribuir a una incompatibilidad ABO, debido a la presencia de anticuerpos de este sistema en el plasma que son incompatibles con los antígenos ABO presentes en los glóbulos rojos, lo que conduce a una hemólisis intravascular como consecuencia de la reacción antígeno-anticuerpo. Se habla de incompatibilidad mayor cuando los glóbulos rojos del donante son incompatibles con el plasma del receptor, mientras que la incompatibilidad menor se produce cuando el plasma del donante es incompatible con los glóbulos rojos del receptor.

Con el presente trabajo se busca actualizar el tema de la importancia clínica que representa la incompatibilidad menor en la transfusión sanguínea, así como dar a conocer otros aspectos relevantes, como las variaciones en los títulos de anticuerpos naturales del sistema ABO en distintas poblaciones, los factores que influyen en ello y los métodos de cuantificación. Para ello, se realizará una revisión bibliográfica de la literatura disponible en base a estudios e investigaciones publicadas.

Palabras clave: sistema sanguíneo ABO, anticuerpos naturales, reacción transfusional hemolítica, incompatibilidad menor.

INTRODUCCIÓN

Uno de los principales grupos sanguíneos es el sistema ABO, en el cual el plasma de una persona contiene anticuerpos contra los antígenos que no están presentes en sus glóbulos rojos; estos son los llamados anticuerpos naturales del sistema ABO. Estos anticuerpos son relevantes tanto en la compatibilidad mayor, como también en la compatibilidad menor, ya que podría generarse una reacción post transfusional debido a un alto título de anticuerpos naturales del hemocomponente donador, como es el caso donde el hemocomponente a utilizar son plaquetas obtenidas por aféresis o uso de sangre total en situaciones de urgencia de transfusiones compatibles no isogrupo.

Esto se enmarca en los antiguamente llamados “donantes O peligrosos”, que son donantes grupo O que presentan elevados títulos de anticuerpos naturales, aumentando el riesgo de una reacción post transfusional cuando son trasfundidos en receptores no isogrupo. Es por ello que algunos estudios han propuesto identificar donantes de sangre de grupo O con bajos títulos de anticuerpos anti-A y anti-B como una fuente rápida y segura de componentes sanguíneos para este tipo de transfusiones.

Frente a esta situación, un tema pendiente en la actualidad es evaluar si se justifica realizar tamizajes en los donantes de sangre, identificándolos de acuerdo a sus títulos de anticuerpos ABO y analizar su impacto en las tasas de reacciones hemolíticas post transfusionales.

Es por ello que el presente trabajo tuvo como objetivo determinar las variaciones en los títulos de anticuerpos naturales del sistema ABO en distintas poblaciones, los factores que inciden en ello, las metodologías de cuantificación y su relevancia clínica a través de la revisión de la literatura.

OBJETIVOS

1. OBJETIVO GENERAL

Determinar las variaciones en los títulos de anticuerpos naturales del sistema ABO en distintas poblaciones, los factores que inciden en ello, las metodologías de cuantificación y su relevancia clínica a través de la revisión de la literatura.

2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1) Analizar el uso actual de plasma grupo O para transfusiones sanguíneas no isogrupo y las decisiones transfusionales en cuanto a títulos de anticuerpos naturales que se pueden transfundir.

2) Indagar sobre los factores que inciden sobre los niveles de anticuerpos naturales del sistema ABO.

3) Conocer las distintas metodologías y técnicas de cuantificación para determinar los títulos de anticuerpos naturales del sistema ABO en los donantes.

METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA Y ORGANIZACIÓN DE LA INFORMACIÓN

Se realizó una revisión de la literatura disponible en relación con los títulos de anticuerpos naturales del sistema ABO y su importancia clínica cuando se dan casos de incompatibilidad sanguínea menor. Para ello, se llevó a cabo una búsqueda en base a estudios e investigaciones publicadas en las bases de datos PubMed, Web of Science, Wiley Online Library, ScienceDirect además del buscador Google Scholar, que incluyen revistas científicas como Transfusion, Blood, entre otras. La búsqueda se realizó utilizando palabras claves o combinaciones tales como *ABO system, isohemagglutinins ABO, natural antibodies, dangerous universal donors, intravenous immunoglobulin, hemolytic reaction, etc.*

Los criterios para la búsqueda de artículos comprenden un filtro de fecha de publicación de no más allá de 10 años, a excepción de ciertas temáticas generales en donde las fuentes de información son de larga data. Otros criterios son el idioma, donde se utilizaron tanto artículos escritos en español como en inglés, considerando que estos últimos comprenden la mayoría de las fuentes actualizadas disponibles.

Para objeto de este trabajo, se realizó una revisión previa de la literatura sobre el tema planteado: “título de anticuerpos naturales ABO”. Luego, se llevó a cabo un análisis de la información para finalmente desprender la pregunta de investigación y justificación del problema. A partir de esto, se confeccionó un índice de contenidos tentativo. La información se organizó desde los conceptos más amplios, como el sistema ABO y sus componentes, los tipos de incompatibilidad, etc., hasta información más específica como situaciones clínicas que se pueden asociar con incompatibilidad menor, así como los factores que influyen en los títulos de anticuerpos naturales y sus métodos de cuantificación.

Finalmente, la bibliografía se realizó utilizando el gestor de referencias bibliográficas Zotero aplicando el estilo de cita Vancouver.

MARCO TEÓRICO

1. INTRODUCCIÓN AL SISTEMA SANGUÍNEO ABO

El sistema de grupos sanguíneos ABO es sin lugar a duda uno de los más importantes desde el punto de vista clínico, debido a la presencia de anticuerpos naturales IgM (y a veces IgG) en el plasma de una persona, contra los antígenos que no están presentes en sus glóbulos rojos. Fue descubierto por Karl Landsteiner en el año 1901, quien observó la aglutinación de los glóbulos rojos al mezclarse con sueros humanos, pero con diferentes patrones dependiendo de los eritrocitos y suero que se estuvieran mezclando.

1.1 Antígenos del sistema ABO

El locus del gen ABO se encuentra en el brazo largo del cromosoma 9 (9q34.1-q34.2) y codifica tres alelos (A, B y O). Los estudios genéticos moleculares iniciales demostraron que el gen ABO se compone de siete exones que abarcan aproximadamente 19,5 kb de ADN genómico (1). Los genes del grupo sanguíneo ABO no codifican directamente los antígenos, sino que codifican glicosiltransferasas, enzimas que participan en la biosíntesis de los antígenos respectivos.

La expresión del sistema ABO es regulada por el sistema H, cuyo gen FUT 1 (H) está localizado en el cromosoma 19, que codifica para la enzima fucosiltransferasa responsable de sintetizar el antígeno H precursor de los antígenos A y B. Como se observa en la Figura 1, la síntesis del antígeno H comienza con la estructura conocida como paraglobósido tipo 2, una cadena de disacáridos a la cual se añade un monosacárido de fucosa por parte de la enzima fucosiltransferasa (FUT 1) constituyendo el antígeno H. Posteriormente, si el individuo pertenece al grupo A, B o AB, presentará enzimas glicosiltransferasas, donde el monosacárido añadido determina la especificidad del antígeno: la transferasa A añade N-acetil-D-galactosamina y la transferasa B añade D-galactosa al antígeno H (Figura 1). Los individuos del grupo O sólo tienen el antígeno H. (2)

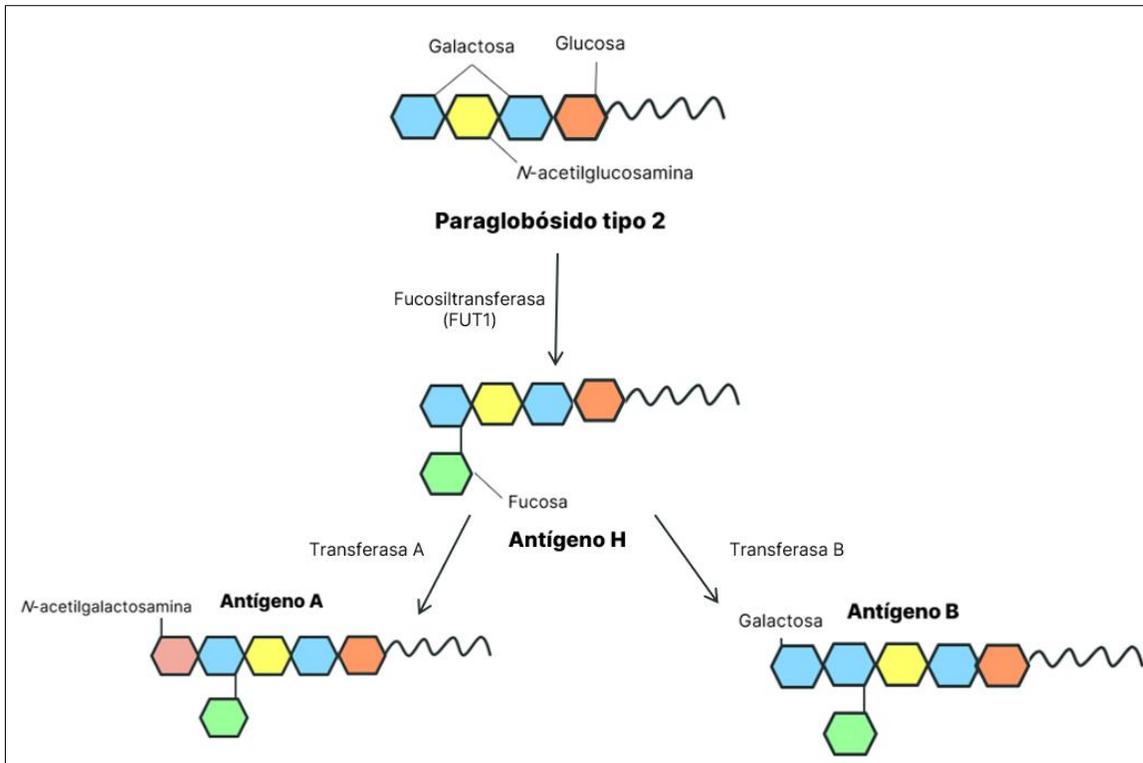


Figura 1. Síntesis de los antígenos del sistema ABO. Elaboración propia Rivera, A. (2021)

La gran variabilidad genética que permite la existencia de diferentes especificidades antigénicas está dada por mutaciones en la secuencia del gen que codifica para la glicosiltransferasa. “Estos cambios se generan principalmente en los exones 6 y 7 de la secuencia del gen ABO, donde se codifica el 77% de la proteína y se encuentra el 91% del dominio catalítico de esta enzima (3)”.

El alelo A produce α -1,3-N-acetilgalactosaminil transferasa, también llamada transferasa-A, mientras que el alelo B codifica α -1,3-galactosil transferasa o transferasa-B. Por su parte, el alelo O se genera por una mutación que determina una pérdida de la actividad glicosiltransferasa, una “deleción de guanina-258 cerca del extremo N de la proteína, lo que da como resultado un cambio de marco y la traducción de una proteína sin actividad enzimática (4)”.

En cuanto al gen H que da origen al precursor, cabe mencionar que tiene una herencia dominante por sobre su alelo amorfo h, por lo que cuando un individuo es hh, el gen está ausente y se genera el fenotipo Bombay, el cual tiene la particularidad de comportarse como grupo O, ya que presenta anticuerpos anti-A y anti-B, pero además producen anticuerpos anti-H, los cuales son muy potentes y pueden producir reacciones hemolíticas muy graves. Es por ello que estos individuos solo pueden recibir glóbulos rojos de otro individuo de fenotipo Bombay.

“Los antígenos ABH se encuentran en glicoproteínas y glicolípidos y, como ya se mencionó, se sintetizan de forma escalonada mediante glicosiltransferasas que añaden secuencialmente monosacáridos específicos en enlaces específicos a una cadena precursora de oligosacáridos en crecimiento (5)”. Cabe destacar que los antígenos del sistema ABO no se limitan a los glóbulos rojos, sino que también se encuentran en la mayoría de las secreciones y en la superficie de plaquetas y en varios tejidos, incluyendo el endotelio, riñón, corazón, intestino, páncreas y pulmón (6). Estos comienzan a desarrollarse en la quinta semana fetal, no obstante, al nacer sólo está presente el 50% de los antígenos adultos, llegando a alcanzar los niveles adultos de antígenos aproximadamente a los 2 a 4 años de edad.

En cuanto a la herencia genética, los alelos A y B tienen una expresión codominante, mientras que el alelo O del sistema ABO es recesivo, por lo que sólo las personas homocigotas para O (genotipo O/O) pertenecerán a este grupo sanguíneo. Se distinguen cuatro fenotipos dentro del sistema ABO: A, B, AB y O. La distribución mundial de los diferentes fenotipos de este sistema varía entre distintas regiones geográficas y grupos étnicos. A modo general, los grupos sanguíneos con mayor frecuencia en la población son el grupo O y grupo A, mientras que el grupo B y AB son los menos frecuentes.

En la tabla 1 se presentan las frecuencias fenotípicas aproximadas de cada grupo sanguíneo del sistema ABO, distribuidas según continente y/o país, de acuerdo con la disponibilidad de datos. Según datos de la Cruz Roja Española, el grupo predominante en este país es el grupo O con un 44% seguido por el grupo A con un 43%, B un 10% y AB un 3% (7). A nivel mundial, se pueden establecer aproximaciones, donde el grupo O es compartido por alrededor del 63% de toda la población, siendo muy frecuente en Centro y Sudamérica, así como también en los países de África y etnia africana en general. El grupo A representa actualmente el 21% de la población mundial, siendo más frecuente en la población europea (30-35%) y llegando al 60% entre los escandinavos y los aborígenes australianos. El grupo B pertenece al 16%, especialmente a la población asiática, siendo poco frecuente en Europa, América y Oceanía. Finalmente, el grupo AB representa menos del 5% de la población, y se postula que surgió de la unión de caucásicos que aportaron el alelo A y asiáticos con el grupo B (8).

Tabla 1. Frecuencia aproximada de los grupos sanguíneos del sistema ABO según zona geográfica (continente y/o país).

Grupo sanguíneo	Europa (España)⁽⁷⁾	Asia⁽⁸⁾	América⁽⁸⁾	África⁽⁸⁾	Oceanía (Australia)⁽⁹⁾
O	44%	45%	54%	52%	51%
A	43%	15%	32%	30%	38%
B	10%	35%	11%	14%	-
AB	3%	5%	3%	4%	-

Elaboración propia Rivera, A. (2022)

1.2 Anticuerpos del sistema ABO

El origen de las isohemaglutininas del sistema ABO ha sido controversial en sus inicios, puesto que se desconocía si estos anticuerpos eran producidos a través de mecanismos innatos heredados o, por el contrario, a través de mecanismos mediados por la inmunidad adaptativa. En la década de 1960, estudios realizados por Springer et al (10,11) permitieron dar un acercamiento a la respuesta: propusieron que las isohemaglutininas ABO eran producidas gracias a la inmunidad adaptativa clásica en respuesta a antígenos

bacterianos. Estudios anteriores y posteriores al descubrimiento de Springer, establecieron que los anticuerpos ABO eran detectables en neonatos muy próximos al nacimiento, que no eran de origen materno por atravesar la placenta ni tampoco podían explicarse adecuadamente por una respuesta inmune a los estímulos ambientales.

Con el descubrimiento de dos líneas distintas de linfocitos B, denominados B1 (CD51) y B2 (CD52), siendo los B1 independientes de células T, por lo que no requieren estimulación previa, mientras que los B2 son dependientes de la estimulación por parte de células T, por lo que median respuestas inmunes adaptativas, se ha posibilitado la propuesta de que las isohemaglutininas ABO son parte de los anticuerpos naturales producidos por linfocitos B1, además de otros anticuerpos producidos contra antígenos que son carbohidratos, como parte de la respuesta inmune innata (12). De hecho, algunos investigadores creen que las isohemaglutininas ABO se producen inicialmente de manera espontánea a partir de un conjunto fijo de genes de línea germinal ancestrales que se encuentran en los linfocitos B B1 (13).

Se generan por mecanismos adaptativos inmunomediados tras una exposición antigénica: “Los anticuerpos ABO aparecen en los primeros meses de vida tras el contacto con diversas sustancias presentes en la dieta o en el medio ambiente (bacterias, plantas, polen) que presentan una estructura similar a los antígenos ABH.” (2) Es más apropiado el término “no estimulado por glóbulos rojos” que “de origen natural” cuando se hace referencia a estos anticuerpos.

Estos anticuerpos siguen la Ley de Landsteiner que establece que una persona siempre tendrá el anticuerpo o isohemaglutinina correspondiente a los antígenos ABH que falten en sus eritrocitos. Por lo que, en el caso de una persona grupo A, cuyos glóbulos rojos presentan antígeno A, su respectivo suero contiene anticuerpos anti-B. Lo contrario ocurre si expresa antígeno B en la superficie de los eritrocitos, donde presenta anti-A. En cambio, el plasma de sujetos AB no contiene anti-A ni anti-B, puesto que expresa ambos antígenos

simultáneamente. Finalmente, en el caso del grupo O, este presentará tanto anti-A como anti-B, ya que sólo expresa el antígeno H en sus eritrocitos.

Los anticuerpos naturales del sistema ABO son principalmente clase IgM, aunque también hay pequeñas cantidades de IgG e IgA en el plasma. Como características principales, la IgM es una aglutinina salina, por lo que es capaz de aglutinar glóbulos rojos suspendidos en solución salina y presenta una temperatura óptima entre 4 a 22°C, excepto los anticuerpos IgM del sistema ABO, que presentan amplitud térmica y pueden actuar a 37°C. Además, tiene la capacidad de activar fácilmente al complemento, por lo que puede causar una rápida destrucción intravascular de los glóbulos rojos incompatibles. La IgM es el isotipo predominante en individuos con grupo A y grupo B.

Por su parte, la IgG presenta una temperatura óptima a 37°C. IgG3 e IgG1 pueden activar el complemento. Es el principal isotipo con especificidad anti-A y anti-B en el suero de individuos grupo O y tiene la capacidad de atravesar la placenta, a diferencia de IgM. Por ello la enfermedad hemolítica del recién nacido (EHFN) es más común entre las madres de grupo O cuando hay incompatibilidad ABO entre la madre y el feto (6).

Dado que la temática principal de esta revisión son los anticuerpos naturales del sistema ABO, en los próximos capítulos se abordarán con mayor detalle.

2. IMPORTANCIA CLÍNICA DE LOS ANTICUERPOS ABO

La mayoría de las reacciones transfusionales hemolíticas se pueden atribuir a anticuerpos ABO (incompatibilidad ABO de los glóbulos rojos) que conducen a una hemólisis intravascular como consecuencia de una fuerte activación del complemento. La significancia clínica de estos anticuerpos está dada por la capacidad de IgM e IgG de activar al sistema del complemento y producir hemólisis.

2.1 Incompatibilidad Mayor en el sistema ABO

La incompatibilidad mayor se produce debido a la presencia de anticuerpos en el plasma del receptor que son incompatibles con los eritrocitos del donante (Figura 2). Se asocia a una mayor gravedad debido a que la fuente de los anticuerpos está en el receptor, por lo que los niveles de anticuerpos pueden aumentar a medida que se somete a una segunda exposición. Las reacciones hemolíticas más graves ocurren en la incompatibilidad mayor, cuando un paciente grupo O es transfundido con eritrocitos grupo A, B o AB. En estos casos, la hemólisis es principalmente intravascular, pudiendo generar una anemia hemolítica.

Dentro de las pruebas pre-transfusionales que se realizan para prevenir lo anterior, cabe mencionar a la prueba cruzada. Esta prueba determina la compatibilidad entre el plasma o suero del receptor y los glóbulos rojos del donante in vitro. “Se define la compatibilidad transfusional como la falta de reacción entre los anticuerpos del receptor y los antígenos del donante (2)”. Esta prueba es muy sencilla de realizar y consiste en mezclar el plasma del paciente con los glóbulos rojos que se va a transfundir para ver si hay alguna reacción de aglutinación inmediata, que daría cuenta de una incompatibilidad.

2.2 Incompatibilidad Menor en el sistema ABO

Es aquella en que el plasma del donante es incompatible con los glóbulos rojos del receptor, debido a la presencia de anticuerpos del sistema ABO que reconocen los antígenos ABO presentes en las células del receptor (Figura 2), pudiendo desencadenar una reacción hemolítica aguda, especialmente cuando se presentan altos títulos de anticuerpos y se transfunde un gran volumen de plasma (14). La hemólisis continúa hasta que se agotan los anticuerpos transfundidos pasivamente.

Las reacciones hemolíticas transfusionales implican destrucción intravascular y extravascular de glóbulos rojos. Si existe incompatibilidad, esto va a dar lugar a la formación del complejo antígeno-anticuerpo, lo cual puede activar el sistema del complemento mediante la vía clásica.

Si la activación del complemento en la superficie de los glóbulos rojos es completa, el complejo de ataque de membrana resultante (C5b6789) provoca hemólisis intravascular. Si la activación del complemento se detiene antes a nivel de C3b, los glóbulos rojos cubiertos con IgG y C3b serán destruidos por los macrófagos, principalmente en el hígado. (...) Si no hay ninguna activación del complemento y los glóbulos rojos están recubiertos sólo con IgG, se eliminan de la circulación principalmente en el bazo, siendo destruidos por los macrófagos. (2)

En el caso de una hemólisis intravascular, su aparición es de manera súbita, disminuyendo rápidamente los niveles de hemoglobina. En casos menos graves, se produce una caída progresiva en los niveles de hemoglobina, con un aumento en los niveles de LDH y bilirrubina indirecta y un descenso de la haptoglobina.

La hemólisis extravascular corresponde a la destrucción de los glóbulos rojos por los macrófagos del bazo e hígado. El proceso está gobernado en gran medida por IgG y se observa principalmente en reacciones transfusionales tardías. Los monocitos/macrófagos

poseen receptores Fcγ que se unen a la porción Fc de la IgG en los eritrocitos sensibilizados, lo que conduce a su fagocitosis. Además, los macrófagos poseen receptores de la fracción C3b del complemento (CR1) en su superficie. (15)

Un estudio realizado por Pandey *et al* (2020) estudió el mecanismo de hemólisis extravascular en el plasma de un donante grupo O que causó una reacción transfusional extravascular en un receptor grupo A, mediante un ensayo de suspensión de monocitos basado en citometría de flujo. Este estudio demuestra que “tanto la IgM activante del complemento de alto título como la IgG anti-A son necesarias para activar los receptores Fcγ y CR1 y dar como resultado una eritrofagocitosis significativa.” (15)

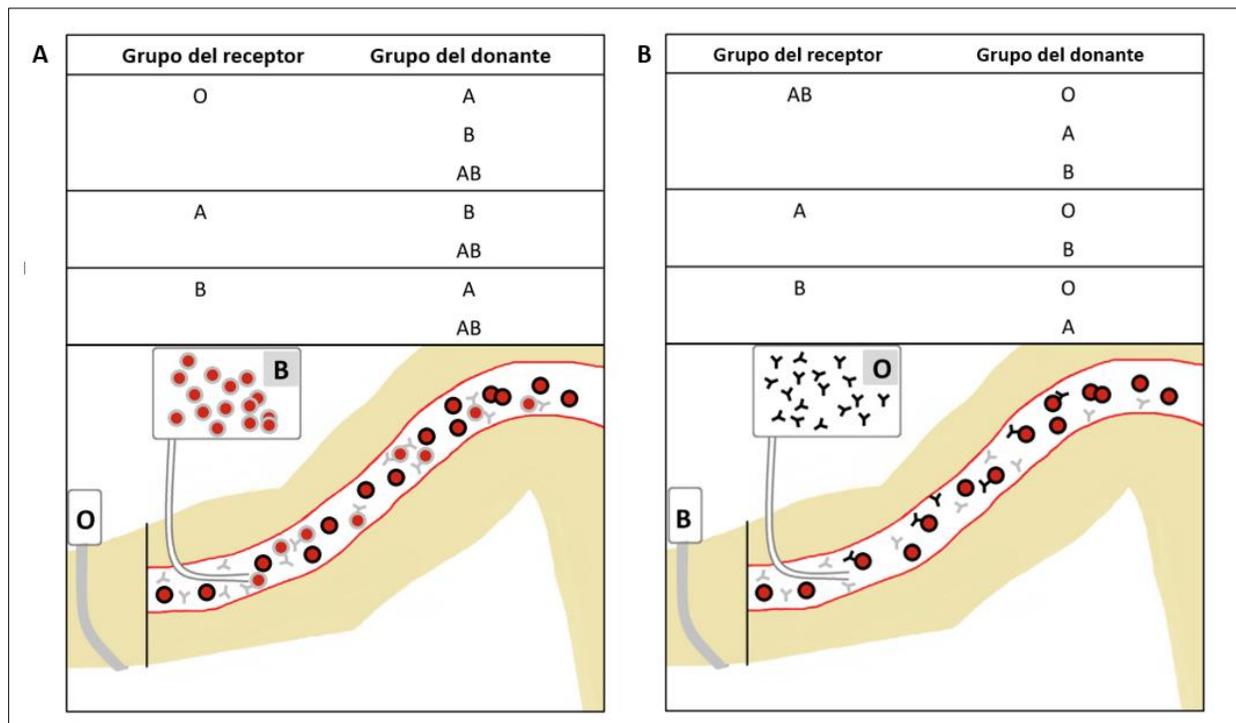


Figura 2. Fisiopatología de la incompatibilidad mayor y menor en el sistema ABO. (A) Incompatibilidad mayor, transfusión de eritrocitos que expresan antígeno B en un paciente grupo O con anticuerpos anti-B. (B) Incompatibilidad menor, transfusión de plasma que contiene anticuerpos anti-B en un paciente tipo B. Tomado y adaptado de Simmons, P y Savage, W (2015). (16)

2.2.1 Donante O peligroso

También denominado “donante universal peligroso”, cuyo término fue descrito por primera vez en 1923, refiriéndose al “potencial de aglutinación de los glóbulos rojos de receptores no O, debido al plasma de donantes de grupo sanguíneo O que contiene altos títulos de anticuerpos anti-A y/o anti-B (17)”.

El concepto de donante O peligroso se utiliza para referirse a aquellas personas del grupo O que presentan elevados niveles de anticuerpos anti-A y anti-B que pueden causar una reacción hemolítica transfusional grave en un receptor no isogrupo, lo que ha sido de suma importancia en la medicina transfusional, ya que incluso se han informado casos fatales posterior a la transfusión de hemocomponentes procedentes de donantes O peligrosos. Por tanto, se recomienda la titulación previa de anticuerpos anti-A y anti-B para prevenir reacciones transfusionales.

Se han realizado múltiples estudios para investigar la frecuencia de títulos altos de anticuerpos anti-A y anti-B, tanto de isotipo IgM como IgG, en donantes grupo O de distintas poblaciones. (18–23)

A pesar de que se desconoce la causa exacta del porqué hay personas con elevado título de anticuerpos, una combinación de factores genéticos y ambientales son candidatos muy probables. Se ha relacionado un aumento en la frecuencia de donantes peligrosos con factores ambientales, diferencias en la composición de la microbiota intestinal, presencia de parásitos intestinales, resultados de la vacunación o exposición a otros antígenos. Otro factor importante es el aumento de mujeres donantes, puesto que el embarazo contribuye al aumento de hemaglutininas anti-A y anti-B (18).

Respecto al factor origen étnico, hay diferencias en los resultados de distintas investigaciones, puesto que un estudio africano identificó una mayor actividad hemolítica de hemaglutininas anti-A y anti-B en suero de sujetos negros, sin embargo, en un estudio brasileño se encontró que no habían diferencias significativas entre la etnia y ser clasificado como donante peligroso, a pesar de la complejidad étnica de la población brasileña (19, 20).

Otro factor importante es la edad, ya que se sabe que los títulos de anticuerpos naturales alcanzan su punto máximo entre los 5 y 10 años, tras lo cual se observa una disminución progresiva a medida que el individuo envejece, por lo que un aumento de los donantes de sangre jóvenes (18-28 años) se asocia con una mayor probabilidad de donantes peligrosos, en comparación con donantes mayores (49-58 años) (21).

3. SITUACIONES CLÍNICAS EN QUE SE REALIZAN TRANSFUSIONES COMPATIBLES NO ISOGRUPO

3.1 Tendencia en el uso de sangre total en receptores no isogrupo

La sangre total o sangre entera proporciona capacidad de transporte de oxígeno, factores de coagulación estables y expansión de la volemia. La medicina transfusional moderna tiene como objetivo el uso de componentes sanguíneos específicos (glóbulos rojos, plasma y plaquetas), en lugar de sangre total, ya que permite un uso óptimo de los recursos, además la sangre total tiene una vida media más corta. No obstante, hay situaciones en que el uso de sangre total, si está disponible, es apropiado, por ejemplo, frente a un shock hemorrágico. Respecto a esto, “alrededor del 40% de las muertes por trauma se deben a hemorragias no controladas y la mayoría de los pacientes mueren dentro de las primeras 24 horas después de la lesión” (25). Según la *American Association of Blood Banks* (AABB) el uso más importante de sangre total en Estados Unidos corresponde a las transfusiones autólogas, puesto que la sangre total debe ser ABO-idéntica con la del receptor (6).

Respecto a las ventajas que ofrece el uso de sangre total es que proporciona una reanimación equilibrada en una bolsa en lugar de hasta tres bolsas que deben obtenerse por separado y almacenarse en diferentes condiciones, contiene menor volumen de solución aditiva, es más fácil y rápido de transfundir que múltiples componentes, contiene plaquetas almacenadas en frío y reduce la exposición del receptor a múltiples donantes. Las unidades de sangre total se almacenan entre 1°C y 6°C durante un máximo de 21 o 35 días, dependiendo de la solución preservante que se utilice. (26) En cuanto al volumen de solución aditiva o preservante, una unidad de sangre total contiene 70 ml de CPD, mientras que la combinación de una unidad de glóbulos rojos, plasma y plaquetas contiene aproximadamente 180 ml de CPD y solución aditiva. Esta diferencia de volumen puede llegar a ser fundamental en una situación de shock hemorrágico y transfusión masiva debido a la coagulopatía inducida por trauma.

Debido a la creciente evidencia que respalda el uso de sangre total en la reanimación equilibrada, existe cada vez mayor interés en su uso como parte de la reanimación con control de daños, no sólo en entornos de atención militar, sino que también en atención civil. La AABB respalda el uso de sangre total grupo O de título bajo (*LTOWB*, por sus siglas en inglés) como donante universal. (6)

Un estudio retrospectivo desarrollado por Bailey *et al* (2019) abordó esta temática recopilando datos de un programa militar. Dado que el shock hemorrágico es la principal causa de muerte evitable en el campo de batalla, en 2014 el Comité del Sistema Conjunto de Trauma de las Fuerzas Armadas de EE. UU. comenzó a promover el uso de sangre total en dichos casos, tras lo cual se generó un programa para identificar donantes de sangre de grupo O con bajos títulos de anti-A y anti-B, para disponer de un banco de sangre que permita el uso de sangre total de forma rápida y segura (29) (Tabla 2). La experiencia militar reciente sugiere que el uso de sangre total puede ser la estrategia de transfusión óptima para pacientes traumatizados. Es por ello que Avery *et al* (2020) llevaron a cabo una revisión sistemática para evaluar el uso de sangre total en comparación con la terapia de hemocomponentes en pacientes adultos traumatizados con hemorragia grave aguda. No obstante, debido a las limitaciones del estudio, no proporciona evidencia suficiente para apoyar o rechazar el uso de sangre total en lugar de hemocomponentes frente a shock hemorrágico. Sin embargo, los autores destacan que “no se informó una reducción de la supervivencia con la transfusión de sangre total en ninguno de los estudios incluidos. Se requieren ensayos prospectivos, aleatorizados o adaptativos más grandes para comprender mejor si el uso de sangre total mejora la supervivencia”. (30) (Tabla 2)

Otro estudio comparativo-retrospectivo realizado por Gallaher *et al* (2020) sobre la transfusión de sangre total de grupo O en trauma civil como alternativa a la terapia de hemocomponentes, demostró que “la reanimación de pacientes traumatizados con sangre total grupo O de título bajo además de la terapia de componentes como parte del protocolo de transfusión masiva es factible y segura sin reacciones a la transfusión y sin diferencias en la mortalidad a las 24 horas o 30 días (31)”. Por lo tanto, en base a la información disponible

actualmente, no se justifica el uso exclusivo de sangre total grupo O de título bajo como parte del protocolo frente a shock hemorrágico, sino más bien adicionalmente a la terapia con componentes sanguíneos. (Tabla 2) Bajo esta misma línea, Hanna *et al* (2020) respaldan el uso de sangre total como complemento a la terapia de componentes en la reanimación de pacientes traumatizados civiles. Los resultados de este estudio mostraron que “La reanimación con sangre total como complemento de la terapia de componentes se asoció con una menor mortalidad hospitalaria, estancias hospitalarias más cortas y tasas más bajas de complicaciones mayores en general, en comparación con la terapia de componentes sola”. (32) (Tabla 2)

Uno de los estudios más recientes al respecto, llevado a cabo por Nowadly *et al* (2021) evaluó el uso de sangre total en pacientes sin lesiones traumáticas, a diferencia de los mencionados anteriormente. En este estudio retrospectivo, se analizaron datos principalmente de pacientes obstétricos/ginecológicos (23%) y pacientes hematológicos/oncológicos (16%). “Con una evaluación previa adecuada de los donantes y las pruebas de detección de enfermedades transmisibles, las transfusiones de sangre total no necesitan los sólidos recursos de bancos de sangre que requiere la terapia de componentes”, escribieron los autores. “Esto proporciona ventajas logísticas de la sangre total en comparación con la terapia de componentes para pacientes que no han sufrido traumatismos”. (33) (Tabla 2)

Himmler *et al* (2021) evaluaron la implementación de un programa de sangre total en un hospital civil de Ecuador, siendo el primer estudio publicado en analizar esta situación en América Latina. Para ello, realizaron una revisión retrospectiva de 101 pacientes con shock hemorrágico reanimados con sangre total O+ desde 2013 a 2019. De los resultados obtenidos cabe mencionar que ninguno de los pacientes desarrolló sintomatología compatible con una reacción transfusional aguda y que la mortalidad global fue del 13,86% en las primeras 24 horas y del 5,94% a las 24 horas. Los autores concluyen que “la transfusión de sangre total representa una estrategia factible para lograr la reanimación hemostática en pacientes que presentan shock hemorrágico, especialmente en países de ingresos bajos y medios”(34),

puesto que esta modalidad de transfusión tiene beneficios financieros y logísticos en comparación con la terapia de componentes, siendo ideal para entornos con recursos limitados y entornos prehospitalarios. (Tabla 2)

Tabla 2. Resumen de los estudios mencionados y sus principales aportes.

Nombre del estudio, autor y año de publicación	Principales conclusiones
<p><i>“Changes in donor antibody titer levels over time in a military group O low-titer whole blood program”</i></p> <p>Bailey <i>et al</i> (2019)</p>	<p>El programa militar para identificar donantes de sangre de grupo O con bajos títulos de anti-A y anti-B ha demostrado que, con repetidas pruebas, los individuos con títulos de anticuerpos inicialmente altos muestran una tendencia hacia títulos más bajos, por lo que no sería necesario realizar sucesivas determinaciones de títulos de anticuerpos para administrar sangre total de forma segura. El mantenimiento de registros de donantes del grupo O de título bajo podría ser útil en desastres y otras situaciones en las que se necesita sangre de emergencia. (29).</p>
<p><i>“Whole blood transfusion versus component therapy in adult trauma patients with acute major haemorrhage”</i></p> <p>Avery <i>et al</i> (2020)</p>	<p>Debido a las limitaciones del estudio, no proporciona evidencia suficiente para apoyar o rechazar el uso de la transfusión de sangre total en comparación con la terapia de hemocomponentes frente a shock hemorrágico (30).</p>
<p><i>“Large transfusion with whole blood is safe compared with component therapy”</i></p> <p>Gallaher <i>et al</i> (2020)</p>	<p>La transfusión que utiliza principalmente sangre total en el trauma civil es factible, incluso en grandes volúmenes. Parece ser una adición segura y eficaz a la terapia de hemocomponentes y puede conducir a una reanimación más equilibrada pero con un producto más generalizado (31).</p>
<p><i>“Nationwide analysis of whole blood hemostatic resuscitation in civilian trauma”</i></p> <p>Hanna <i>et al</i> (2020)</p>	<p>Postula el uso de sangre total complementario a la terapia de componentes, en lugar de esta última por separado, ya que se observa una reducción en la mortalidad, estancia hospitalaria y complicaciones asociadas. (32)</p>

Nombre del estudio, autor y año de publicación	Principales conclusiones
<p data-bbox="240 268 678 409"><i>“The use of whole blood transfusion during non-traumatic resuscitation”</i></p> <p data-bbox="321 489 597 520">Nowadly <i>et al</i> (2021)</p>	<p data-bbox="701 268 1492 573">El uso de sangre total en patologías no traumáticas como las ginecológicas/obstétricas, así como hematológicas/oncológicas, es posible con una preselección adecuada de los donantes. Sin embargo, se requieren más datos de resultados para expandir de manera segura las indicaciones de sangre total más allá del trauma (33).</p>
<p data-bbox="267 600 652 850"><i>“Is the whole greater than the sum of its parts? The implementation and outcomes of a whole blood program in Ecuador”</i></p> <p data-bbox="321 930 597 961">Himmler <i>et al</i> (2021)</p>	<p data-bbox="701 600 1492 905">Presenta un análisis de los resultados de un programa de sangre total implementado en un hospital civil de Ecuador, siendo el primer reporte realizado en Latinoamérica. Consideran que es una estrategia factible en pacientes con shock hemorrágico, especialmente en países de ingresos bajos y medios.</p>

Elaboración propia Rivera, A. (2022)

3.2 Uso de plaquetas grupo O obtenidas por aféresis en receptores no isogrupo

Los concentrados de plaquetas se pueden obtener a partir de varios donantes al azar o a partir de un donante único. En el primer caso, se mezclan 4 a 6 concentrados de plaquetas de donantes al azar para obtener una dosis terapéutica de plaquetas. En cambio, las plaquetas de donante único se obtienen mediante un procedimiento de aféresis, para lo cual se requiere que el donador esté conectado a un equipo de aféresis, el cual procesa de tres a cuatro litros de sangre del donador y separa los componentes sanguíneos por centrifugación o filtración, dependiendo del equipo. Entonces, como resultado final se obtienen sólo plaquetas y se devuelve el resto de la sangre al donante. Las ventajas de esta técnica son que reduce la exposición del receptor a múltiples donantes, por lo tanto, reduce el riesgo de transmitir enfermedades infecciosas, además permite obtener productos leucorreducidos con mayor facilidad. (35) Un concentrado de plaquetas por aféresis contiene un recuento mayor o igual a $24 - 30 \times 10^{10}$ plaquetas en un volumen de 200 a 400 ml de plasma u otra solución conservante, en cambio, un concentrado de plaquetas unitario obtenido por centrifugación contiene un recuento mayor o igual a $5,5 \times 10^{10}$ plaquetas en un menor volumen de plasma, de 40 a 60 ml. (36)

Las plaquetas al igual que los glóbulos rojos expresan antígenos del sistema ABO, y al ser obtenidas por aféresis son suspendidas en la unidad de plasma del donante, que contiene los anticuerpos ABO correspondientes a su grupo sanguíneo, por lo que ante una incompatibilidad de grupo, los anticuerpos ABO que se transfieren pasivamente del plasma del donante pueden provocar hemólisis de los glóbulos rojos del receptor: “La hemólisis clínicamente significativa es una complicación rara pero potencialmente grave de la administración de una transfusión de plaquetas con incompatibilidad ABO.” (37) Esta complicación es más probable en plaquetas obtenidas por aféresis, debido a que todo el plasma proviene del mismo donante y no se “diluye” por plasma con menores títulos de anticuerpos de otras unidades del pool (38).

El riesgo en estas transfusiones ABO incompatibles está dado principalmente por tratarse de donantes de plaquetas de grupo O con altos títulos de anti-A y anti-B que pueden causar una hemólisis significativa cuando se administran a receptores de grupo A, B o AB. De hecho, de acuerdo con un estudio realizado por Malvik *et al* (2020) está comprobado que las plaquetas ABO incompatibles se asocian con un aumento en las tasas de reacciones transfusionales de 1,5 a 2 veces más en comparación con las transfusiones compatibles con ABO (39). Debido a este riesgo, organismos como la AABB establecen que los servicios de transfusión cuenten con políticas asociadas a la transfusión de hemocomponentes con cantidades significativas de anticuerpos ABO incompatibles.

Aunque se prefiere la transfusión de plaquetas ABO compatibles, en la práctica constituye un desafío para los servicios de transfusión, debido al limitado suministro y la vida media corta de las plaquetas (5 días). Por lo que la medicina transfusional actual ha implementado diversas estrategias para evitar o disminuir las posibles reacciones adversas.

Estrategias para disminuir el riesgo de reacciones adversas en transfusión de plaquetas no isogrupo

Una de ellas es definir un nivel seguro de isohemaglutininas (título crítico) para disminuir el riesgo de hemólisis cuando se administran plaquetas no isogrupo, definiendo ciertos donantes O peligrosos. Un estudio realizado por Josephson *et al* (2004) sugirió un título de corte de 64 para IgM y 256 para isoaglutininas IgG en concentrados de plaquetas (40). Mientras que, según lo establecido en la octava edición de `Pautas para los servicios de transfusión de sangre en el Reino Unido` cada establecimiento de sangre debe tener una política para evitar el uso de títulos altos de anti-A y/o anti-B en los casos en que es probable que se produzca una reacción clínica adversa significativa. Se recomienda una dilución de 1/128 mediante prueba de aglutinación salina o una dilución equivalente por otras técnicas (41).

También se puede limitar la cantidad de plasma que es parte de la transfusión mediante la centrifugación de la unidad y la eliminación de la mayoría del plasma poco antes de la transfusión. Además, se puede resuspender el contenido en plasma compatible con el receptor. Sin embargo, este proceso tiene como desventajas la pérdida de un porcentaje de plaquetas de la unidad y es un proceso que requiere mucho tiempo. (6) Romphruk *et al* (2012) prepararon plaquetas de grupo O (libres de antígenos A y B) y las resuspendieron en plasma AB (libre de anti-A y anti-B). Los resultados obtenidos sugieren que esta modificación realizada produce unidades de plaquetas con títulos relativamente muy bajos (<8) y se pueden administrar con seguridad a todos los pacientes, independientemente de su grupo sanguíneo ABO particular. (42)

Otra estrategia es diluir el plasma ABO incompatible con Solución de Aditivo Plaquetario (PAS). “El uso de PAS para almacenar plaquetas ha ganado importancia, ya que eliminan una fracción sustancial de plasma y la reemplazan con una solución tamponada isotónica en una proporción de 65% PAS / 35% Plasma.” (43) El fundamento de esta práctica es que, al almacenar las unidades de plaquetas con PAS, se reduce la cantidad de plasma, y a la vez los niveles de anticuerpos ABO. En esta misma línea de investigación, un estudio retrospectivo realizado por Kc *et al* (2021) demostró que “la adición de PAS para almacenar plaquetas de aféresis reduce los niveles de títulos de anticuerpos IgM ABO a la mitad, en comparación con las plaquetas de aféresis suspendidas en plasma.” (43)

Basu *et al* (2021) realizaron un estudio con el objetivo de comparar la calidad y la eficacia de plaquetas obtenidas por aféresis almacenadas en PAS versus almacenadas en plasma. Para ello, los investigadores analizaron varios parámetros de calidad de las plaquetas, incluidos la concentración y el contenido de plaquetas, el pH, swirling plaquetario, la contaminación de glóbulos blancos, los niveles de glucosa y LDH y los títulos de anticuerpos. Como resultado, se encontró que la calidad de las plaquetas se mantuvo y hubo una reducción de las reacciones alérgicas con el uso de plaquetas almacenadas en PAS, aunque estos resultados fueron estadísticamente insignificantes. Además, tanto las plaquetas almacenadas en PAS como las plaquetas almacenadas en plasma mostraron una eficacia similar posterior

a la transfusión. Por lo tanto, los autores concluyen que no existe suficiente evidencia para la implementación universal de plaquetas almacenadas en PAS, considerando el mayor costo asociado, y sugieren su uso en pacientes poli transfundidos con manifestaciones alérgicas y en transfusiones de plaquetas con incompatibilidad menor ABO en pacientes refractarios a la transfusión de plaquetas. (44)

3.3 Producción de inmunoglobulinas endovenosas

La inmunoglobulina intravenosa (IgIV) se utiliza como terapia de reemplazo para inmunodeficiencias o como inmunomodulador para tratar enfermedades autoinmunes e inflamatorias. Se puede administrar a corto o largo plazo y en dosis bajas o altas, dependiendo del diagnóstico y la necesidad de cada paciente. La IgIV consiste en IgG purificada a partir de plasma de donantes, que puede contener anticuerpos ABO de título variable. La mayor parte del plasma utilizado para su elaboración proviene del grupo sanguíneo O, debido a su prevalencia en la población. Como consecuencia, la IgIV contiene anticuerpos que son reactivos contra el grupo A, B y AB. Como sabemos, el plasma contiene anticuerpos principalmente IgM, pero también IgG e IgA en menor cantidad. Sin embargo, “el proceso de fraccionamiento y fabricación para la producción de inmunoglobulina intravenosa elimina la mayoría de los anticuerpos IgM e IgA, dejando la mayor parte de las isohemaglutininas IgG.” (45) Asimismo, debido a que el plasma presenta antígenos ABO solubles “la combinación permite una neutralización parcial variable de las aglutininas anti-A y anti-B por las sustancias solubles del grupo sanguíneo.” (46) Por lo tanto, la depleción de IgM e IgA durante la fabricación y la neutralización natural, permiten que el producto final de IgIV normalmente contenga sólo una pequeña fracción de IgG anti-A y anti-B.

Aunque generalmente el tratamiento con IgIV es bien tolerado, cuando se administra IgIV en altas dosis, los efectos adversos son más graves, entre ellos se encuentra la anemia hemolítica. Particularmente los eventos hemolíticos se generan por una incompatibilidad menor, puesto que el plasma contiene isohemaglutininas incompatibles con los glóbulos rojos del paciente y se presentan en aproximadamente 1,6% de los pacientes entre las 12 horas a los 10 días después de la primera administración con IgIV. “Estos eventos son más prevalentes en receptores con grupos sanguíneos A, B y AB. Se cree que la transferencia pasiva de IgG anti-A y anti-B juega un papel en el desarrollo de eventos hemolíticos.” (45) Entre los factores que aumentan el riesgo de esta complicación se encuentran, como ya se mencionó, una alta dosis de IgIV y tener grupo sanguíneo distinto de O, asimismo el sexo femenino y presentar un estado inflamatorio subyacente. “Otros factores del paciente, como el fenotipo secretor, la sustancia ABH soluble y los polimorfismos del receptor Fcgamma,

también pueden desempeñar un papel.”(47) Se propone que el mecanismo de la hemólisis sería, primero, la transferencia pasiva de anticuerpos ABO a pacientes no grupo O, y segundo, el aumento en la actividad del sistema inmunitario en pacientes con un estado inflamatorio subyacente, con eliminación acelerada de glóbulos rojos sensibilizados de la circulación. (48) Los hallazgos de un estudio observacional prospectivo publicado por Pendergrast *et al* (2021) sugieren que la hemólisis está mediada por la fagocitosis de los macrófagos en lugar de la lisis mediada por el complemento. (49)

Un estudio observacional realizado por Bruggeman *et al* (2020) reportó un aumento de los eventos hemolíticos en pacientes que recibían IgIV como tratamiento de la enfermedad de Kawasaki que coincidió con la introducción de nuevas preparaciones de IgIV en América del Norte que contenían títulos relativamente altos de anti-A y anti-B. “Estos anticuerpos específicos del grupo sanguíneo eran del tipo IgG2 y resultó en fagocitosis por macrófagos derivados de monocitos de una manera dependiente de FcγRIIa.” (50)

Asimismo, se reporta un caso de anemia hemolítica significativa en una mujer caucásica de 59 años, que requirió transfusión de concentrado de glóbulos rojos después de la administración de IgIV para el tratamiento de la Púrpura Trombocitopénica Inmune (PTI). (51) Por ende, la complicación de eventos hemolíticos asociados a IgIV tiene un alcance importante y como tal, debe ser tomado en cuenta frente a su uso, particularmente en pacientes con factores de riesgo de hemólisis.

Algunas acciones que se están implementando actualmente para resolver este problema son la preselección de donantes a partir de los cuales se prepara la IgIV para evitar el uso de unidades de plasma con altos títulos de anticuerpos y el uso de inmunoabsorbentes específicos para disminuir los títulos de anti-A y anti-B (52). De acuerdo con los estándares de la FDA, la IgIV no debe tener títulos de anti-A y/o anti-B superiores a 64 para su aprobación. Por su parte, las pautas actuales de la Farmacopea Europea requieren que los productos de IgIV tengan títulos de anti-A de 32-64 y anti-B de 16-32, evaluado por el ensayo

directo. (53) No obstante, en el estudio citado anteriormente de Bruggeman *et al* (2020), todas las preparaciones de IgIV analizadas cumplían con los requisitos para los títulos de anticuerpos, lo cual sugiere que, a pesar de que un producto de IgIV específico cumpla con los criterios, esto no garantiza que no se produzca hemólisis asociada con IgIV (50), especialmente cuando se emplean altas dosis de IgIV como terapia inmunomoduladora.

Otro procedimiento más actual para disminuir los niveles de anticuerpos en el producto final de IgIV es mediante la cromatografía de inmunoafinidad (IAC) incluida en el proceso de producción, cuya implementación global se completó en el año 2017. La cromatografía de inmunoafinidad se basa en la interacción de unión específica en la reacción antígeno-anticuerpo. Como se observa en la Figura 3, la eliminación de las isohemaglutininas se fundamenta en que la columna de IAC contiene el ligando, que corresponde a partículas similares a los antígenos A y B, que se inmovilizan en la fase estacionaria de la matriz de cromatografía, que por lo general corresponde a agarosa o polímeros sintéticos. Entonces, al pasar el pool de plasma que contiene la IgG no purificada, los anticuerpos anti-A y anti-B se unen a sus ligandos, mientras que la IgG intravenosa permanece en la fase móvil, pudiendo obtenerse el producto de IgIV purificado libre de los anticuerpos anti-A y anti-B contaminantes. Esta técnica no modifica otras características de la IgIV y la pérdida de otros anticuerpos es mínima, no así otras técnicas utilizadas para la purificación de IgG como el fraccionamiento en etanol frío.

Un estudio realizado por Gerber *et al* (2016) comparó el cribado de donantes con el uso de IAC durante la producción de IgIV y su impacto en los títulos de anticuerpos, cuyos resultados fueron una reducción de anti-A y anti-B de 39% y 27%, respectivamente, con la selección de donantes; y del 89% y 88% con IAC (54) . Más recientemente, dentro de la misma línea de investigación, Shebl *et al* (2020) realizaron un estudio para evaluar el efecto de implementar IAC durante la producción de una IgIV específica del mercado (IgPro10, Privigen) en las tasas de reacciones hemolíticas, reportando que hubo una reducción significativa de entre un 82% y un 92% en la tasa de eventos hemolíticos en pacientes con

enfermedades para las cuales está indicada la IgIV en estudio como terapia inmunomoduladora, tales como miastenia gravis y enfermedad de Kawasaki. (55)

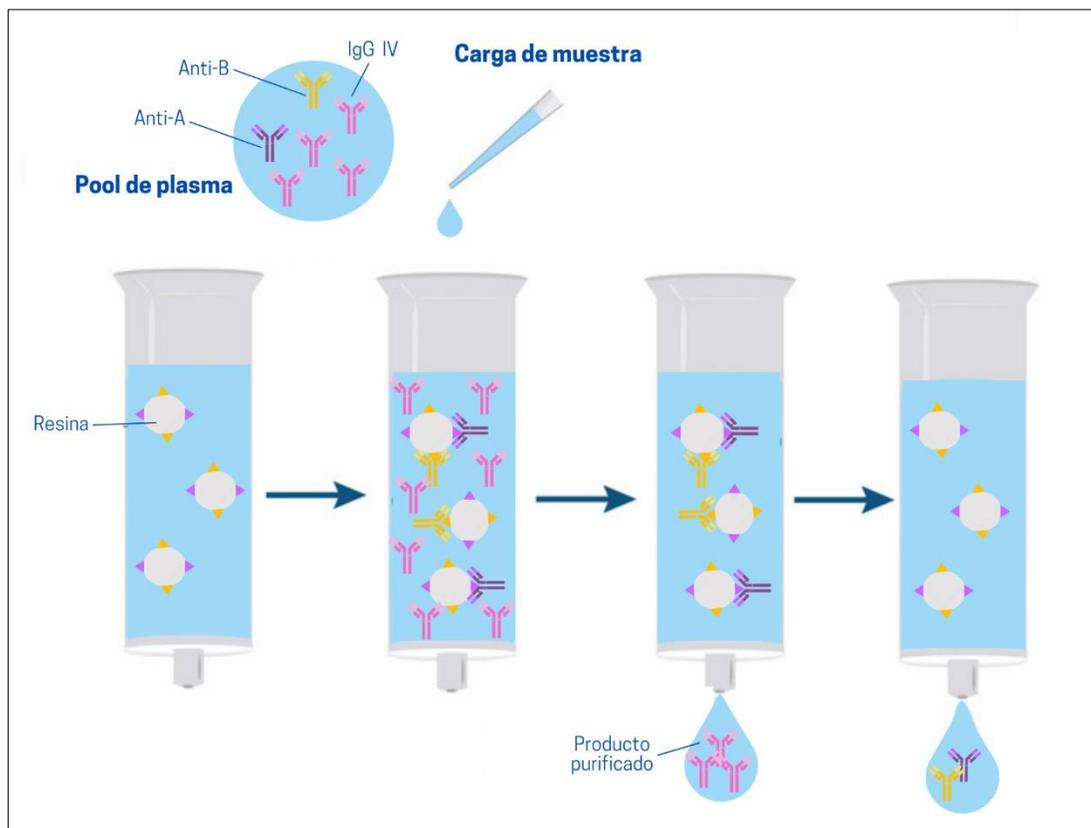


Figura 3. Fundamento de la cromatografía de inmunoafinidad aplicada a la fabricación de inmunoglobulina intravenosa. Elaboración propia Rivera, A. (2022)

Por lo tanto, para reducir el riesgo de reacciones hemolíticas por el uso de IgIV se debe considerar la incompatibilidad de grupo (pacientes que no son grupo O) y la implementación por parte de los fabricantes de acciones orientadas a disminuir los niveles de inmunoglobulinas anti-A y anti-B del producto final, tales como el cribado de donantes y una etapa de reducción de isoaglutininas basada en cromatografía de inmunoafinidad.

4. VALORES CRÍTICOS DE ANTICUERPOS NATURALES PARA TRANSFUSIONES DE COMPONENTES PLASMÁTICOS GRUPO O EN RECEPTORES NO ISOGRUPO:

4.1 Transfusión de plaquetas obtenidas por aféresis y sangre total

La transfusión de plaquetas en comparación con la transfusión de glóbulos rojos y plasma fresco congelado está asociada a una mayor tasa de reacciones adversas no hemolíticas, incluidas reacciones transfusionales febriles no hemolíticas (RTFNH) y reacciones alérgicas. (56) Por el contrario, las reacciones hemolíticas debido a transfusión de plaquetas ABO no isogrupo son poco frecuentes, no obstante, no están exentas de riesgo.

La hemólisis intravascular aguda por transfusión de plaquetas ABO no isogrupo es una entidad relativamente rara pero clínicamente significativa. Se reportan casos como el publicado por Moinuddin *et al* (2019) sobre una paciente de 61 años, grupo sanguíneo A, con trombocitopenia inducida por quimioterapia que desarrolló hemólisis intravascular aguda posterior a la transfusión de 1 unidad de plaquetas grupo O de un único donante. Se estableció que el origen de la hemólisis fue el elevado título de anticuerpos anti-A1 que presentaba la unidad transfundida, correspondiente a un título de 512. (57) Los autores realizaron una revisión de la literatura en búsqueda de casos similares ocurridos en las últimas dos décadas, encontrándose 11 casos reportados, de los cuales la mayoría de los pacientes pertenecía al grupo sanguíneo A. Entre los informes de casos que mencionan los títulos de isohemaglutinina de los donantes, se encontró que el título de anti-A era mayor o igual a 128. Algunos autores sugieren que pacientes grupo A y B deben recibir transfusiones de plaquetas obtenidas por aféresis de grupo O sólo si el título de anti-A o anti-B en las plaquetas del donante es bajo (típicamente entre 50 y 250)(57). No obstante, incluso con títulos de anti-A de 128 se han reportado casos de hemólisis aguda (38), por lo que todavía existe una falta de consenso en la literatura sobre el título crítico de isohemaglutinina.

Como se menciona anteriormente, Josephson *et al* (2004) realizaron un estudio para conocer la prevalencia de donantes de plaquetas con altos títulos de anti-A/B. Para ello, definieron puntos de corte de títulos de 64 para IgM y 256 para IgG, los cuales fueron escogidos arbitrariamente debido a que son los más comúnmente citados en la literatura. Los autores concluyeron que, si un producto de plaquetas presenta títulos más altos que los puntos de corte definidos, no se debería realizar la transfusión a un receptor no isogrupo. (40) (Tabla 3)

Un foro internacional titulado “Transfusión de plaquetas de aféresis y grupos ABO” (2005) analizó la ocurrencia de hemólisis intravascular causada por anticuerpos ABO después de la transfusión de plaquetas obtenidas por aféresis, mediada por una incompatibilidad menor. Para obtener esta información, se contó con la participación de 16 expertos en la materia, provenientes de diferentes países. Los editores comentan que los valores considerados críticos fueron títulos de > 64 para IgM y > 256 para IgG. (58) (Tabla 3)

Por su parte, la AABB recomienda evitar la transfusión de unidades no isogrupo teniendo un título de isoaglutininas "altamente peligroso". Según la AABB, el umbral de anti-A definido generalmente es un título de 200. “No obstante, este criterio carece de evidencia sólida, varía según el método y no selecciona todos los donantes potencialmente peligrosos”. (6) (Tabla 3)

Según Strandenes *et al* (2014) “Aunque no existe un estándar internacional establecido oficialmente para los títulos, la mayoría de las autoridades parecen aceptar un título anti-A y -B inferior a 100 para IgM y 400 para anticuerpos de tipo IgG.” (59) (Tabla 3) Estos niveles también coinciden con el estándar nacional del Servicio Nacional de Salud del Reino Unido y serían compatibles con los estándares de la mayoría de los países europeos y de los Estados Unidos.

Massey (2019) realizó una revisión de la literatura de casos de hemólisis asociada a la transfusión de títulos altos de anti-A y/o anti-B, de los 15 casos revisados concluyó que, en casi todos los informes de casos, la investigación del suero del donante reveló un título de al menos 256 para IgG y de 128 para IgM. (41) No obstante, la mayoría de los autores de dichos casos reportados definió como título de corte superior a 64 para IgM y superior a 256 para IgG. (Tabla 3)

El *Serious Hazards of Transfusion* (SHOT), el sistema de hemovigilancia del Reino Unido, recomienda que “Los servicios de sangre deben revisar el título crítico de ≥ 128 para la detección de títulos altos anti-A y anti-B, y considerar si las donaciones deben ser analizadas para detectar anticuerpos IgG además de anticuerpos IgM.” (60) (Tabla 3)

De los estudios realizados para conocer la frecuencia de títulos altos de anticuerpos anti-A y anti-B en donantes grupo O, se puede mencionar el realizado por Godín *et al* (2016), cuyo objetivo fue estimar la frecuencia de donantes universales peligrosos en un Banco de Sangre de Brasil. “Los donantes peligrosos eran aquellos cuyos títulos de IgM anti-A o anti-B eran ≥ 128 y/o los títulos de IgG anti-A o anti-B eran ≥ 256 .” (21) (Tabla 3) También cabe mencionar el estudio realizado por Aguilar *et al* (2022), quienes buscaban describir la frecuencia de títulos altos de anticuerpos IgM e IgG anti-A y anti-B en donantes de plaquetas del grupo O por aféresis, en un Banco de Sangre de Perú. En este caso, utilizaron dos puntos de corte como título crítico para IgM debido a falta de consenso, que fueron ≥ 128 y ≥ 64 , mientras que para IgG fue ≥ 256 . (23) (Tabla 3)

Respecto a la sangre total grupo O de bajo título (LTOWB), esta se define como un título de IgM anti-A y anti-B menor a 256. (61) No obstante, existe evidencia de que la transfusión de sangre total con títulos anti-A y anti-B de hasta 400 no se relacionó con reacciones importantes asociadas a la transfusión. (62)

Tabla 3. Resumen de los valores de corte definidos como título crítico para anti-A y anti-B por diferentes autores.

Autor (es) o Entidad	Título crítico	Referencia
Josephson <i>et al</i> (2004)	IgM > 64 IgG > 256	(40)
Foro internacional “Transfusión de plaquetas de aféresis y grupos ABO” (2005)	IgM > 64 IgG > 256	(58)
<i>American Association of Blood Banks</i> (AABB)	Anti-A > 200	(6)
Strandenes <i>et al</i> (2014)	IgM > 100 IgG > 400	(59)
Massey (2019)	IgM ≥ 64 IgG ≥ 256	(41)
<i>Serious Hazards of Transfusion</i> (SHOT)	Anti-A/B ≥ 128	(60)
Godín <i>et al</i> (2016)	IgM ≥ 128 IgG ≥ 256	(21)
Aguilar <i>et al</i> (2022)	IgM ≥ 64-128 IgG ≥ 256	(23)

Elaboración propia Rivera, A. (2022)

Por lo tanto, podemos decir que la determinación de los títulos de anti-A y anti-B en componentes plasmáticos del grupo O, especialmente las plaquetas obtenidas por aféresis, tiene gran relevancia, sobre todo cuando se utilizarán en receptores no isogrupo.

5. FACTORES QUE AFECTAN EL TÍTULO DE ANTICUERPOS NATURALES ABO O DE OTROS SISTEMAS

Diversos estudios sugieren que los niveles de anticuerpos naturales del sistema ABO parecen ser influenciados por factores tales como la alimentación, situaciones fisiológicas como la edad, el embarazo, origen étnico e inmunizaciones, y por último, situaciones patológicas como transfusiones sanguíneas o posterior a una infección, entre otros.

Alimentos

La ingesta de alimentos como factor que influye en los niveles de anticuerpos naturales se relaciona específicamente con el consumo de probióticos. Los prebióticos y probióticos pueden tener efectos beneficiosos sobre la composición y la actividad microbiana dentro del intestino humano, afectando posteriormente al sistema inmunológico. En el caso de los probióticos, estos son microorganismos vivos que, en determinadas condiciones, confieren un beneficio para la salud del huésped, puesto que presentan propiedades inmunomoduladoras, que pueden actuar de manera directa modulando la secreción de inmunoglobulinas o citoquinas, aunque también pueden actuar de manera indirecta mejorando la barrera epitelial intestinal y compitiendo por nutrientes con bacterias patógenas (63). Ejercen esta inmunomodulación mediante la producción de ácidos grasos de cadena corta que interactúan con células dendríticas, las cuales estimulan a linfocitos B, que finalmente producen los anticuerpos (64). La mayor parte de estos microorganismos beneficiosos pertenecen a los géneros *Lactobacillus* spp. y *Bifidobacterium* spp.

Existe evidencia que sustenta el efecto de los probióticos sobre los niveles de anticuerpos naturales, tal como la reportada por Aguilar Soto (2014), quién realizó un estudio para determinar la influencia del consumo de probióticos sobre los títulos de anticuerpos del sistema ABO. Los resultados de esta investigación concluyeron que existe un incremento leve, aunque clínicamente significativo en los títulos de los anticuerpos anti-B isotipo IgG del grupo de estudio intervenido que consumió probióticos diariamente durante 28 días (65). Asimismo, otro estudio, aunque de más larga data, realizado por Daniel-Johnson et al (2009)

reporta dos casos de reacciones hemolíticas transfusionales mediadas por plaquetas obtenidas por aféresis en pacientes grupo B a partir de un mismo donante del grupo A que consumía altas dosis de probióticos. Este estudio comprobó que ciertas formulaciones de probióticos como las consumidas por el donante, contienen bacterias que presentan antígenos similares en estructura al antígeno B que pueden estimular una mayor producción de anti-B cuando los ingieren sujetos que carecen del antígeno correspondiente, como los individuos del grupo O (66). El mecanismo de acción de los probióticos propuesto por Daniel-Johnson *et al* (2009) se puede representar mediante la Figura 4, donde en una primera instancia, las bacterias que conforman estos probióticos, presentan estructuras antigénicas similares a los antígenos A y B. Estas estructuras son presentadas a los linfocitos B, los cuales se activan y diferencian a células plasmáticas, que finalmente producen los anticuerpos, en este caso, de isotipo IgG anti-A y anti-B, que pasan a circulación sanguínea.

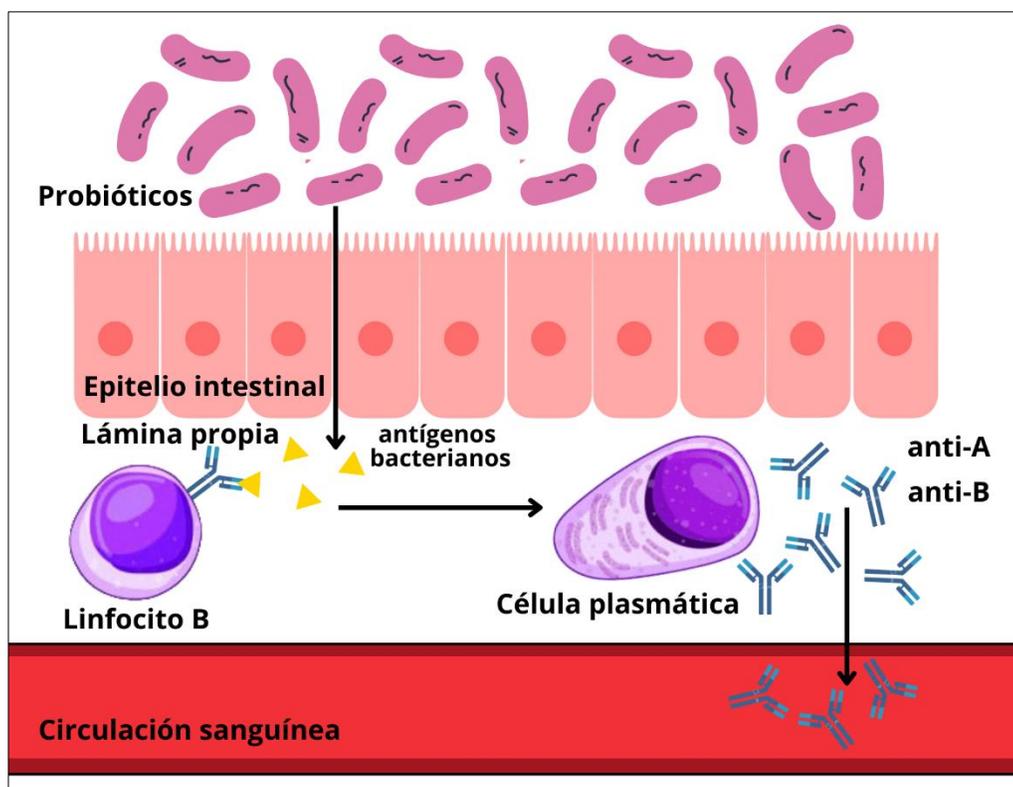


Figura 4. Efecto de los probióticos en la síntesis de anticuerpos del sistema ABO. Elaboración propia Rivera, A. (2022)

Por otro lado, se considera que una dieta basada mayoritariamente en alimentos procesados puede afectar los niveles de anticuerpos ABO reduciéndolos. Mazda *et al* (2007) investigaron los cambios en los títulos de anti-A/B en la población japonesa entre 1986 y 2001, y los compararon con los títulos de poblaciones laosianas y tailandesas. Como resultado, se observó una disminución significativa en los títulos de anti-A/B en la población japonesa durante ese periodo, comparado con dichas poblaciones. Una de las causas que los autores atribuyen a esto es que Japón es un país desarrollado y que ha adquirido un estilo de vida más occidentalizado, especialmente respecto a la comida. Además, ha aumentado la prevalencia de enfermedades alérgicas, cardíacas, diabetes y cáncer en la población. En contraste, Laos es un país relativamente subdesarrollado y sus habitantes suelen comer alimentos naturales, mientras que los japoneses consumen más alimentos procesados. (67)

Por todo lo mencionado anteriormente, se deduce que la ingesta de probióticos tiene importancia a nivel transfusional, pudiendo ser un factor importante a considerar, especialmente para la transfusión de plaquetas obtenidas por aféresis, debido a su alto contenido de plasma, y por ende, de anticuerpos. Asimismo, se postula como otro factor probable el estilo de alimentación, especialmente relacionado con el consumo de alimentos procesados.

Edad

Es sabido que, en general, la inmunidad celular y humoral disminuye en los seres humanos a medida que envejecen, por lo que los anticuerpos naturales del sistema ABO no son la excepción. La producción de anticuerpos anti-A y anti-B comienza entre el tercer y sexto mes de vida. Los títulos de estos anticuerpos alcanzan elevados niveles entre las edades de cinco y diez años.

Uno de los estudios más importantes que analizó la relación entre los niveles de anticuerpos anti-A/B y la edad del individuo, fue realizado por Thomsen y Kettel (1929) todavía citado en los últimos manuales estándar de medicina transfusional. Los resultados

mostraron un título de aglutinación promedio máximo a la edad de 5 a 10 años y, posteriormente, una disminución constante con el aumento de la edad. Pero incluso con la gran cantidad de sueros que los autores estaban usando en su estudio (más de 1400 en total), fue difícil obtener correlaciones estadísticamente comprobables entre las categorías de edad y el título de aglutinación. (68)

Bajo esta misma línea de investigación, Rieben *et al* (1991) realizaron un estudio donde compararon las diferentes categorías de edad, entre 20 y 67 años, con los títulos de aglutinación, los cuales se midieron mediante ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA ABO), concluyéndose respecto a los resultados que “Para ninguno de los cuatro tipos de aglutinación (anti-A para los grupos sanguíneos O y B, y anti-B para los grupos O y A) se pudo delinear una tendencia clara y significativa de variación relacionada con la edad.” (69)

Pese a estos resultados, Auf der Maur *et al* (1993) continuaron realizando investigaciones para obtener información adicional y corroborar los resultados de estudios previos. Para ello, midieron los títulos de aglutinación en sueros de personas mayores, de 61 a 97 años, además de incluir sueros de recién nacidos y niños, de 1 mes a 17 años. Cabe mencionar que en este estudio sólo participaron sujetos catalogados clínicamente como normales en cuanto a parámetros inmunológicos y hematológicos. Los títulos también fueron medidos por el ensayo ELISA ABO. Como se describió anteriormente por otros autores, no se encontró aglutinación en las pruebas con sueros de recién nacidos, pero se observó un rápido aumento en los títulos después del sexto mes de vida, y los niveles de adulto se alcanzaron entre los 5 y los 10 años. Estos valores se mantuvieron constantes con fluctuaciones leves hasta la edad de 80 a 90 años y solo después disminuyeron significativamente. Sin embargo, incluso en los sueros de personas de 90 a 97 años, los títulos de aglutinación promedio fueron 128, con títulos máximos de 512. Por lo tanto, estos resultados demuestran que no existe una disminución relacionada con la edad en los títulos de anti-A/B, puesto que los títulos de individuos sobre 80 años no difieren de aquellos de personas jóvenes. Los hallazgos del estudio también confirman datos anteriores sobre el

aumento de IgG anti-A/B en el suero de personas mayores y revelan un aumento relacionado con la edad de IgA anti-A/B en sujetos del grupo O. (70)

Won y Kim (2012) determinaron los niveles de IgG anti-A/B mediante citometría de flujo, en el suero de individuos grupo A y grupo B, cuyos resultados mostraron que los niveles de anticuerpos ABO tendían a aumentar con la edad, aunque no de manera significativa. (71) La medición se realizó por grupo sanguíneo; el grupo A estaba conformado por 30 individuos cuyas edades oscilaban entre 29 a 70 años, con una media de 47 años, mientras que el grupo B estaba conformado por 30 individuos entre las edades de 26 a 66 años, con un promedio de 47 años.

Un estudio realizado en un programa militar de donantes grupo O con bajos títulos de anticuerpos determinó las variaciones en los niveles de anti-A y anti-B durante un periodo de dos años, no sólo en los donantes identificados con bajos títulos, sino que también en los donantes que inicialmente tenían títulos elevados (>256), demostrándose que “si bien los títulos pueden cambiar y cambian con el tiempo, existe una tendencia hacia la disminución de los títulos con el tiempo y con el aumento de la edad (6)”. Lo interesante del estudio realizado por Bailey et al (2019) es que se observó que alrededor de un 75% de los donantes inicialmente identificados con títulos altos, fueron re-identificados con títulos bajos, considerando además que esta disminución fue observable en un periodo de tan sólo 18 meses. Sin embargo, este estudio no arrojó evidencia que explicase esta disminución en los títulos de anticuerpos, mencionando que no se puede descartar la posibilidad de que el cambio en los títulos se asocie a diferencias de reactivos en los análisis.

Embarazo

Otro de los factores que afectan los niveles de anticuerpos son las inmunizaciones, tales como una transfusión de sangre, vacunación o embarazo. En el caso del embarazo, se sabe que este es un factor que contribuye a un aumento de las hemaglutininas anti-A y anti-B, especialmente durante un embarazo ABO incompatible. En estas circunstancias se

produce una aloinmunización de la madre con la posterior producción de aloanticuerpos contra los antígenos presentes en los glóbulos rojos del feto, lo cual se conoce como enfermedad hemolítica del feto y del recién nacido (*Haemolytic disease of foetus and newborn*, HDFN por sus siglas en inglés), siendo la producida por incompatibilidad feto-materna ABO la más común. (72)

Aproximadamente un 15% a 25% de los bebés son ABO incompatibles con sus madres, pero sólo el 1% tiene una HDFN significativa porque la IgM no cruza la placenta hacia la circulación fetal. (73) Además, debido a que los eritrocitos fetales expresan niveles bajos de antígenos ABH, la hemólisis rara vez es grave. El riesgo de HDFN es mayor cuando la madre tiene títulos altos de anticuerpos IgG, que suele darse en personas grupo O. Por lo que la importancia de la incompatibilidad ABO feto-materna radica en caso de que la madre sea grupo O, donde se puede presentar HDFN durante el primer embarazo. En dicho caso los anticuerpos IgG maternos pueden cruzar la barrera placentaria y dirigirse hacia los glóbulos rojos fetales si el antígeno está presente en su membrana. Esto puede conducir a la destrucción de los hematíes del feto y provocar una anemia fetal. (74)

No obstante, a pesar de que el grupo sanguíneo O tiene más probabilidades de tener un embarazo ABO incompatible, se ha relacionado con una probabilidad reducida de aloinmunización en el embarazo, debido al efecto profiláctico 'natural' del anti-A/B presente en su plasma, puesto que la presencia de anti-A/B facilita la eliminación de los glóbulos rojos fetales A/B después de la hemorragia feto-materna, antes de que pueda tener lugar la inmunización con el antígeno. (74)

Vacunas

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), “Se entiende por vacuna cualquier preparación destinada a generar inmunidad contra una enfermedad estimulando la producción de anticuerpos” (75). Las vacunas son productos biológicos compuestos por

microorganismos muertos (inactivados), atenuados o partes de ellos, que se administran para prevenir enfermedades infecciosas en las personas susceptibles de padecerlas.

Respecto a la variación en los títulos de anticuerpos tras la exposición a vacunas, se ha demostrado que el nivel de anticuerpos naturales anti-A y anti-B aumenta con la vacunación con la mayoría de las vacunas de origen biológico (76), debido a similitudes entre los antígenos del sistema ABO con algunas bacterias y virus, por lo que este tipo de vacunas puede contener contaminantes con cierta capacidad antigénica del sistema ABO. Esto se ha descrito para la vacuna contra la fiebre tifoidea, tétanos, influenza, neumococo y contra la peste bubónica y neumónica (76). De hecho, se informan títulos elevados de anticuerpos reactivos ABO después de la inmunización con varias vacunas de uso habitual, por ejemplo, toxoide tetánico, T.A.B. (tifoidea, paratifoidea A, paratifoidea B), difteria y sustancias similares al grupo sanguíneo A se han encontrado en vacunas contra meningococo, *Haemophilus influenzae*, virus influenzae A/B y *Yersinia pestis* (19). Se demostró que la inmunización con la vacuna antineumocócica y ciertos toxoides, incluidos el tétanos y la difteria, causan un marcado aumento en los títulos de anticuerpos, especialmente anti-A, atribuible a una sustancia similar al antígeno A en la cápsula polisacárida de *Streptococcus pneumoniae*, y la presencia de sustancia similar al antígeno A en pepsina de estómago de cerdo utilizada en la producción de toxoides (66). En el caso de la vacuna antineumocócica polivalente, esta se compone por el antígeno capsular de *S. pneumoniae* serotipo 14, y su relación con el sistema ABO se debe a que una subunidad de disacárido de este antígeno sirve como precursor bioquímico de los antígenos del sistema ABO (77). Como se observa en la Figura 5, existe una similitud estructural en cuanto a la composición del polisacárido capsular de *S. pneumoniae* serotipo 14 y el antígeno A, puesto que ambos presentan los azúcares Galactosa y N-acetilglucosamina en su estructura, lo cual podría explicar el aumento de anticuerpos del sistema ABO, especialmente de anti-A, en personas inmunizadas con vacuna antineumocócica polivalente que tengan ausente el antígeno A, tales como personas del grupo B o grupo O. Por otro lado, en el caso de los toxoides diftérico y tetánico, la presencia de una sustancia similar al antígeno A se debe a que los medios de cultivo utilizados en la preparación de estos contienen pepsina de estómago de cerdo. Se ha demostrado que

esta sustancia de tipo A está presente en cantidades considerables en la mucina gástrica de cerdo, y que al combinarse con ciertos componentes de proteínas bacterianas se vuelve altamente antigénica (78).

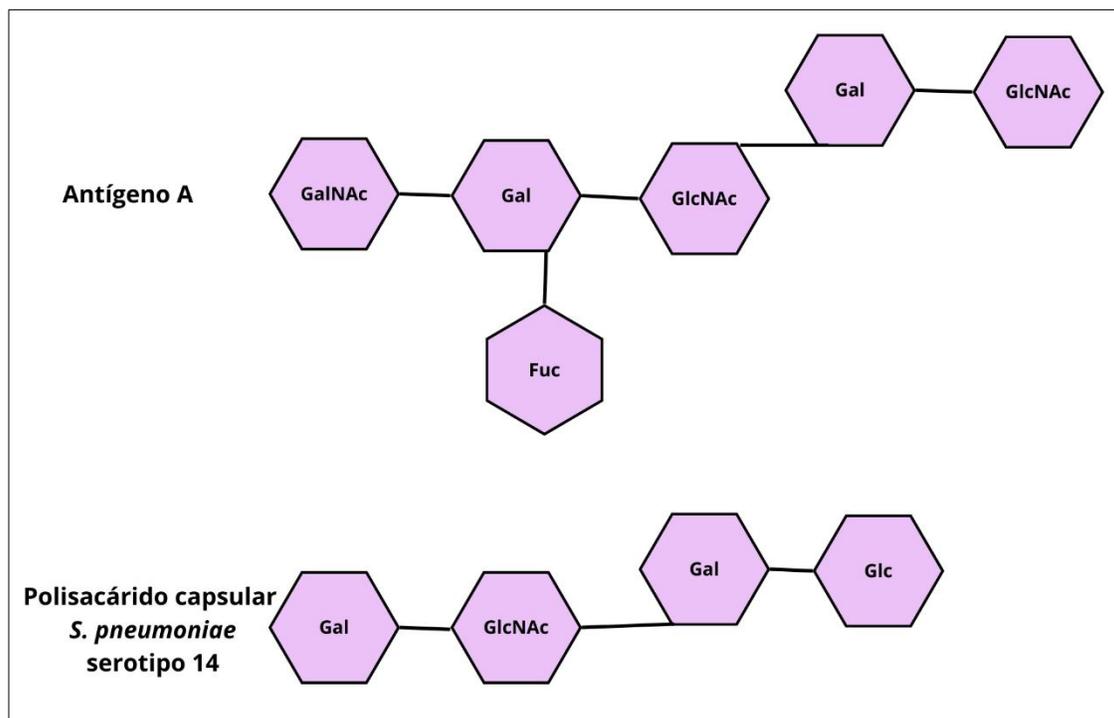


Figura 5. Estructura del antígeno A y del polisacárido capsular de *S. pneumoniae* serotipo 14. Comparación entre las estructuras polisacáridas del antígeno A y el polisacárido capsular de *Streptococcus pneumoniae* serotipo 14 para evidenciar su similitud. GalNAc: N-acetilgalactosamina; Gal: galactosa; GlcNAc: N-acetilglucosamina; Fuc: fucosa; Glc: glucosa. Elaboración propia Rivera, A. (2022) (79)

Siber *et al* (1982) reportó un caso de reacción hemolítica en un receptor grupo A producto de una transfusión de plaquetas provenientes de un donante grupo O que había sido inmunizado un mes anterior a la donación con *Pneumovax*, una vacuna antineumocócica que contiene la sustancia similar al antígeno A mencionada anteriormente. También comenta que la mayoría de los donantes grupo O y grupo B inmunizados con esta vacuna tenían una respuesta anti-A cuatro veces o más alta. (80)

Por lo tanto, la mayor producción de anti-A, y en menor medida, de anti-B, se vería influenciada, por una parte, por la similitud antigénica entre ciertos serotipos de bacterias como *Haemophilus influenzae* o *Streptococcus pneumoniae* y un determinante de los antígenos del sistema ABO, y por otro lado, debido a la contaminación con esta sustancia similar al antígeno A de medios de cultivo elaborados a partir de tejidos animales utilizados en la producción de estas vacunas.

Por el contrario, se ha demostrado que con el uso de vacunas recientes existe una tendencia a estabilizar los niveles de anticuerpos, lo cual se puede asociar a las nuevas técnicas de fabricación, debido a que la mayoría de las nuevas vacunas se producen de manera biosintética y/o son altamente purificadas, y por ende, se reducen o incluso eliminan contaminantes de sustancias antigénicas asociadas con ciertos sistemas sanguíneos como el sistema ABO. (76) Es por esta razón que las fuentes bibliográficas que respaldan la relación entre las vacunas y los niveles de anticuerpos ABO datan de años e incluso décadas atrás, puesto que no es un fenómeno que se observe con las vacunas actuales.

6. MÉTODOS DE CUANTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS NATURALES DEL SISTEMA ABO

La titulación de anticuerpos es un método semicuantitativo empleado para determinar la concentración de anticuerpos presentes en muestras de suero o comparar la intensidad de la expresión antigénica en distintas muestras de glóbulos rojos. Sus aplicaciones son: 1) estimar la actividad de los anticuerpos en embarazadas aloinmunizadas; 2) definir la especificidad de los autoanticuerpos; 3) caracterizar los anticuerpos con títulos altos y baja avidéz y 4) observar el efecto de los reactivos sulfhidrilo sobre el comportamiento de los anticuerpos, para reconocer la clase de inmunoglobulina involucrada (IgG o IgM) (6). Para ello pueden utilizarse desde las clásicas pruebas de aglutinación directa en tubo hasta pruebas de aglutinación en gel. (6)

La técnica de titulación se fundamenta en el proceso de aglutinación, debido a la interacción Antígeno-Anticuerpo. La aglutinación puede detectarse mediante varios métodos distintos: 1) prueba en tubo en la que la aglutinación se detecta visualmente por el aspecto del botón en el fondo luego de la centrifugación por la adhesión de glóbulos rojos entre sí, 2) aglutinación pasiva en microplaca donde la aglutinación se detecta por el patrón de distribución de glóbulos rojos en los pocillos individuales, y 3) prueba en gel en la que los glóbulos rojos no aglutinados pasan a través de una matriz de gel pero los complejos aglutinados se retienen en la parte superior de la misma debido a su mayor tamaño. (6)

El título de un anticuerpo se determina mediante diluciones seriadas de la muestra, ya sea suero o plasma, con suero AB inerte, que es un suero con anticuerpos negativo, y se añaden glóbulos rojos grupo O de antigenicidad conocida, que presenten el antígeno cuya especificidad tiene el anticuerpo a titular. La técnica se puede realizar en tubo, para lo cual se deben utilizar glóbulos rojos al 4%, o en gel, empleando glóbulos rojos a una concentración de 1%. Posterior a la centrifugación se registran los resultados.

El título corresponde a la última dilución en donde todavía se observa aglutinación, por lo tanto, es el recíproco de la dilución. Como se observa en la Figura 4, el tubo en donde todavía se observa aglutinación corresponde a la dilución 1/64, por lo que el título es 64.

Los resultados del título se pueden expresar según el score, el cual evalúa la intensidad de la aglutinación y va desde 0 a 12, siendo una aglutinación de 4+ igual a 12, 3+ igual a 10, 2+ igual a 8 y 1+ igual a 5. La suma correspondiente a todos los tubos representa el score y se establece que el umbral significativo de comparación es cuando existe una diferencia de 10 o más de puntaje entre las muestras (6, 53).

En el caso de la titulación de anticuerpos naturales, el fundamento es el mismo, con la consideración de que en ese caso los anticuerpos a titular tienen especificidad anti-A y anti-B, por lo que se deben utilizar glóbulos rojos con fenotipo A1 y B.

La titulación es un procedimiento en que las variables técnicas afectan mucho los resultados, con lo cual se requiere gran cuidado para lograr la mayor uniformidad posible. A continuación, se resumen algunas recomendaciones para realizar correctamente una técnica de titulación.

Requisitos para estandarizar la técnica de titulación:

- Emplear el mismo sistema: tarjeta, tubo, microplaca.
- Glóbulos rojos del mismo fenotipo en las titulaciones sucesivas.
- El suero y los glóbulos rojos en igual proporción que en la titulación previa.
- La titulación, de ser posible, debe ser realizada por la misma persona.
- Trabajar, en paralelo, con la muestra anterior (a partir de títulos de 16). (2)

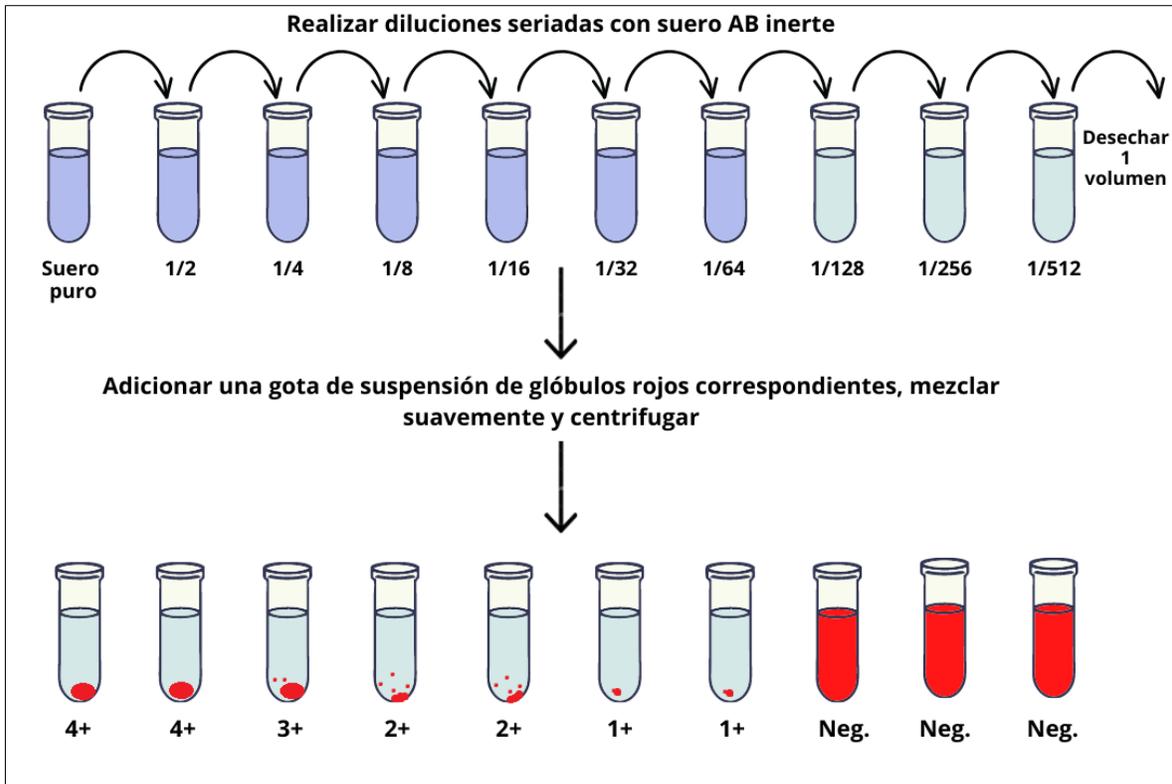


Figura 6. Técnica de titulación en tubo. Elaboración propia Rivera, A. (2022) (82)

Existen variaciones entre laboratorios en cuanto a la medición del título de anticuerpos naturales ABO, debido a la disponibilidad de varias técnicas diferentes y la ausencia de un método estándar. Asimismo, es pertinente recordar que, a pesar de que los anticuerpos naturales son principalmente isotipo IgM, se reconoce la presencia de ciertas cantidades de anticuerpos naturales isotipo IgG.

6.1 Titulación de anticuerpos naturales anti-A y anti-B isotipo IgM

Para cuantificar los anticuerpos naturales de isotipo IgM, se debe seguir el mismo principio de titulación anteriormente descrito, realizando diluciones seriadas del plasma del paciente con suero AB inerte, para posteriormente agregar los glóbulos rojos de fenotipo conocido (A1 o B) al 4% para realizar la técnica en tubo y al 1% para realizar la técnica en gel. Como se trata de anticuerpos IgM, estos se deben incubar a temperatura ambiente (22-24°C).

6.2 Titulación de anticuerpos naturales anti-A y anti-B isotipo IgG

6.2.1 Inactivación de IgM

Para realizar la cuantificación de los anticuerpos naturales isotipo IgG, ya sea anti-A y/o anti-B, inicialmente se debe inactivar la capacidad aglutinante de los anticuerpos IgM. Para dicho propósito se utilizan agentes reductores como el ditioneitol (DTT) que reduce los puentes disulfuros de la cadena J que une a los monómeros de IgM, por lo que, al mezclar el suero o plasma en estudio con el DTT, se elimina la capacidad aglutinante de IgM. (83) Luego, se debe mezclar el suero inactivado junto con los glóbulos rojos de fenotipo adecuado para la especificidad del anticuerpo IgM (A1 y/o B), e incubar a temperatura ambiente (22-24°C) para posteriormente, centrifugar y realizar la lectura.

Si se observa aglutinación macroscópica, esto indica que aún existen anticuerpos IgM aglutinantes, por lo que se debe repetir el proceso de inactivación. En caso de no observarse aglutinación macroscópica, se pueden realizar estudios para detección de anticuerpos IgG, que corresponde al Test de Antiglobulina Indirecto (TAI).

6.2.2 Test de antiglobulina indirecto (TAI)

Permite detectar anticuerpos IgG presentes en el suero o plasma, previa incubación con glóbulos rojos apropiados. Este se fundamenta en que, al mezclar, en este caso, el suero inactivado con los glóbulos rojos de fenotipo conocido (A1 y/o B) e incubar a 37°C, si hay anticuerpos IgG anti-A y/o anti-B, estos se unirán a sus antígenos respectivos. Sin embargo, los anticuerpos IgG no tienen la capacidad de aglutinar de manera directa, por lo que una vez transcurrido el tiempo de incubación, se deben centrifugar los tubos y lavar el contenido con PBS cuatro veces (para eliminar las inmunoglobulinas no adheridas) y luego adicionar una gota de suero antiglobulina humana (SAGH) poliespecífico. Este SAGH consiste en anticuerpos dirigidos contra la IgG humana, por lo que se une a los anticuerpos IgG fijados a la membrana de los glóbulos rojos y produciendo la aglutinación. En cuanto a la

característica de ser poliespecífico, esto se refiere a que no sólo reconoce IgG, sino que también fracciones del complemento, lo cual aumenta la sensibilidad de la prueba. (6)

Si en este punto la aglutinación macroscópica es positiva, indica la presencia de anticuerpos isotipo IgG. En cambio, si no se observa aglutinación macroscópica, esto indica ausencia de anticuerpos de isotipo IgG o niveles no detectados, por lo que se debe validar la prueba de antiglobulina agregando glóbulos rojos sensibilizados o células control Coombs. La adición de células sensibilizadas a todos los tubos negativos se realiza para asegurar que el SAGH está activo y que no ha sido neutralizado por alguna proteína residual presente en el tubo. Estas células deben aglutinarse, si no es así, el test queda invalidado y todo el procedimiento debe ser repetido.

6.2.3 Titulación de anticuerpos isotipo IgG

Para cuantificar los anticuerpos de isotipo IgG, se debe seguir el mismo principio de titulación anteriormente descrito, realizando diluciones seriadas del plasma del paciente con suero AB inerte, para posteriormente agregar los glóbulos rojos de fenotipo conocido (A1 o B) al 4% para realizar la técnica en tubo y al 1% para realizar la técnica en gel. Como se trata de anticuerpos IgG, estos se deben incubar a 37°C y posteriormente realizar técnica de antiglobulina indirecta (TAI) para revelar la presencia de anticuerpos IgG.

6.3 Técnica de titulación en gel

Corresponde a una técnica de hemaglutinación en fase sólida, que fue introducida en 1990 y consta de una tarjeta preparada comercialmente de plástico con seis a ocho microtubos o microcolumnas incorporadas que contienen partículas de gel, cuya composición varía de acuerdo a los distintos fabricantes. Las columnas presentan una cámara de reacción en la parte superior, mientras que la parte inferior contiene un gel transparente (BIO-RAD y Grifols) o una matriz de microesferas de vidrio (Ortho-Clinical Diagnostics). (84)

Esta prueba ofrece muchas ventajas en la detección de antígenos y anticuerpos: presenta un mayor rendimiento, puesto que es menos susceptible a errores de manejo y genera resultados claros que son estables y pueden revisarse posteriormente, ya que las tarjetas pueden conservarse hasta por 24 horas, incluso pueden almacenarse durante períodos más largos en formatos electrónicos. En cuanto al flujo de trabajo en el laboratorio, requiere un tiempo de incubación más corto y elimina la fase de lavado. Finalmente, esta técnica es compatible con sistemas automatizados utilizados ampliamente (85). La cantidad de laboratorios que utilizan esta técnica como método de titulación de anticuerpos ABO ha aumentado, a pesar del mayor costo que implica.

Existen distintas presentaciones de las tarjetas, según el fabricante, además de distintos tipos de geles. Para realizar titulación de anticuerpos IgM se utilizan tarjetas con geles neutros, donde cada columna está compuesta por esferas de dextrán o vidrio, las cuales son mezcladas con solución tamponada.

En cuanto al fundamento de la técnica, este consiste en que se incorporan antisueros específicos, tales como SAGH, en el gel o en la matriz de microesferas según los requisitos de la prueba en particular. Se prepara una suspensión de glóbulos rojos al 1% y se mezcla una cantidad de esta suspensión con plasma. Las tarjetas se incuban si es necesario y luego se centrifugan. Los glóbulos rojos sensibilizados se aglutinan en la matriz de gel/perlas y quedan atrapados en la parte superior, mientras que las células no sensibilizadas forman un botón en la parte inferior de la microcolumna. Las aglutinaciones pueden graduarse en cruces, pudiendo incorporar un lector de tarjetas automatizado, el cual otorga objetividad a la graduación. (84)

6.3.1 Comparación de técnica en gel con la prueba en tubo para la titulación de anticuerpos

Distintos estudios publicados en las últimas décadas han demostrado que la técnica de microcolumna de gel tiene mejores tasas de detección de anticuerpos, y, por ende, valores de título más altos en comparación con la prueba de tubo convencional, aunque esto es controversial. En la Tabla 4 se resumen los principales puntos de comparación entre la técnica de aglutinación en gel y la técnica en tubo.

Por ejemplo, Shirey *et al* (2010) examinaron la capacidad de la técnica en gel para monitorear los títulos de anti-A y anti-B de pacientes que estaban inscritos en el programa de trasplante de riñón ABO incompatible de su institución, en comparación con la prueba en tubo, no obstante, encontraron que no hubo diferencias significativas entre los dos métodos puesto que “Se observaron títulos más altos con la misma frecuencia entre los dos métodos, pero los valores de títulos de ninguna muestra variaron más de una dilución entre los dos métodos.” (86) En cambio, el estudio realizado por Kumlien *et al* (2007) demostró que sí había diferencias significativas en los niveles de anticuerpos anti-A y anti-B en relación con el método utilizado. En dicho estudio se analizaron las mismas muestras de 21 donantes de sangre sanos en tres centros distintos utilizando métodos locales actuales. Los resultados confirmaron las diferencias relacionadas con el método, concluyendo que la técnica de hemaglutinación en gel disminuye significativamente la variación intercéntrica en comparación con la técnica en tubo. (87)

Park *et al* (2014) investigaron los títulos de anticuerpos ABO de individuos sanos usando la técnica de aglutinación en columna con o sin ditiotreitol (DTT) y los compararon con los títulos obtenidos usando el método en tubo convencional. Para este estudio se seleccionaron 180 individuos (60 con grupo sanguíneo A, 60 con grupo B y 60 con grupo O). Uno de los resultados obtenidos fue que la técnica de aglutinación en columna con DTT se consideró más sensible en comparación con el método en tubo con DTT, especialmente en individuos del grupo O, lo cual podría deberse a que el isotipo IgG es el principal para

anti-A y anti-B en el suero del grupo O, mientras que IgM es el isotipo predominante encontrado en los individuos del grupo A y del grupo B, y porque la actividad de IgG se ve reforzada por el SAGH, especialmente en el método de aglutinación en columna que incluye tanto LISS como SAGH. (88)

Otro estudio realizado por Kang *et al* (2014) realizó una comparación de los títulos de anticuerpos ABO entre la prueba en tubo y la prueba en gel, demostrando que existía una diferencia en la capacidad de detección de anticuerpos ABO dependiendo del grupo sanguíneo. En este estudio se analizaron 274 muestras de individuos (75 del grupo A, 75 grupo B, 82 grupo O y 42 grupo AB). Para la detección de anticuerpos ABO se utilizó la prueba en tubo y la técnica en gel sin tratamiento con DTT, y se separaron los resultados en dos fases: la de incubación a temperatura ambiente y la prueba de antiglobulina indirecta (TAI). Los resultados mostraron que los títulos de la prueba a temperatura ambiente fueron casi siempre más altos para la prueba en tubo en comparación con la técnica en gel para todos los grupos sanguíneos. Sin embargo, las diferencias en los títulos usando la prueba de antiglobulina indirecta variaron según los grupos sanguíneos: la prueba en tubo mostró los títulos más altos en los grupos sanguíneos A y B, mientras que la técnica en gel mostró el título más alto sólo para la detección de anti-A en el grupo O. Por lo tanto, estos resultados sugieren tener precaución al interpretar los resultados del título de anticuerpos ABO, teniendo en cuenta el método de detección utilizado y el grupo sanguíneo. (89)

Nayak *et al* (2018) realizaron un estudio donde se analizaron 48 muestras de sangre del grupo O y se compararon cinco métodos diferentes para titular anticuerpos ABO: titulación en tubo de giro inmediato (IS), titulación en tubo fase SAGH, titulación en tarjeta de gel, titulación en tarjeta de gel con DTT y el método de adherencia de glóbulos rojos en fase sólida (SPRCA). Los resultados obtenidos permitieron concluir que existen diferencias significativas en las lecturas de títulos de anticuerpos ABO entre diferentes técnicas, siendo los títulos anti-A y anti-B más altos en la prueba en tubo probado en la fase SAGH en comparación con todos los demás métodos estudiados. Una de las posibles razones que explicaría esto es porque el título informado para la prueba en tubo fue el recíproco de la

dilución más alta que mostró una aglutinación débil (w+), en lugar de una aglutinación 1+ como en las otras técnicas, lo cual propone poca concordancia entre la prueba en tubo con fase SAGH y la técnica de gel. (90) La decisión de los investigadores de usar la aglutinación débil (w+) como criterio de evaluación se debe a que según la investigación de AuBuchon *et al* (2008), la variabilidad inter-observador es menor si se considera la lectura w+ para interpretar el título en comparación con la lectura 1+. (91)

Tabla 4. Comparación entre la técnica de aglutinación en gel y la prueba en tubo convencional.

	Técnica de aglutinación en gel	Prueba en tubo convencional
Número de pasos necesarios	8-12	14-19
Fase de lavado	Omitido	Múltiples pasos de lavado
Volumen de muestra	Pequeño	Mayor volumen requerido
Uniformidad de las pruebas en determinaciones repetidas	Sí	Depende de la habilidad técnica del operador
Resultados claros y fáciles de leer	Sí	Variabilidad en la interpretación
Detección de anticuerpos IgG	Sí	Sí
Detección de anticuerpos IgM	Sí	Sí
Adecuado para muestras lipémicas/hemolizadas	Hasta 75 mg/dl de hemoglobina libre	Difícil en muestras hemolizadas
Susceptible a modificaciones de GR y suero durante la prueba	Algunas modificaciones son posibles	Sí
Detección de anticuerpos de importancia clínica		
Sensibilidad	93,5-100 %	50%
Especificidad	94,4%	98,6%

Tomado y adaptado de Bajpai *et al* (2012) (84)

6.4 Citometría de Flujo

La citometría de flujo es una tecnología que proporciona un análisis rápido de células individuales suspendidas en una solución a medida que pasan por uno o varios láseres. Cada partícula se analiza para determinar la dispersión de la luz visible, la cual se divide en dos: la dispersión hacia delante (*forward scatter*, FSC) que indica el tamaño relativo de la célula y

la dispersión lateral (*side scatter*, SSC) que indica la complejidad interna o granularidad de la célula. Además, se determina la fluorescencia de cada partícula, para lo cual las muestras se preparan con reactivos fluorescentes. Estos incluyen anticuerpos conjugados con fluorescencia, colorantes de unión a ácidos nucleicos y proteínas de expresión fluorescentes. (92)

Diversos estudios recientes sugieren la aplicación de la citometría de flujo como un método sensible de detección de anticuerpos ABO, puesto que mide con precisión tanto IgM como IgG mediante el uso de anticuerpos específicos de isotipo. (89) Algunos estudios han informado que la citometría de flujo produce resultados relativamente comparables a los del ensayo de hemaglutinación en microplacas (93) y la técnica de aglutinación en gel (71).

En efecto, Stussi *et al* (2005) desarrollaron un ensayo semicuantitativo basado en citometría de flujo para determinar la unión de IgM, IgG y subclases de IgG a antígenos ABO expresados en glóbulos rojos (*ABO-fluorescence-activated cell sorting*, ABO-FACS). Usando este método, midieron la cantidad total de anti-A/B en 120 donantes de sangre sanos y compararon los resultados con la hemaglutinación en microplaca, demostrando que los títulos de IgM e IgG anti-A/B según la técnica ABO-FACS se correlacionaban con los títulos obtenidos por hemaglutinación. Otro hallazgo interesante fue que 3/82 muestras (4 %) del grupo sanguíneo A, B o AB fueron positivas en el ABO-FACS y negativas en el ensayo de hemaglutinación, lo que indica la aparición de anticuerpos anti-A/B que se unen a los glóbulos rojos, pero que no inducen la hemaglutinación. Por lo tanto, se deduce que una de las ventajas de emplear métodos basados en citometría de flujo es que permite detectar la presencia de todos los anticuerpos anti-A/B que se unen al respectivo antígeno expresado en glóbulos rojos, no solo anticuerpos hemaglutinantes o hemolizantes. (93)

Por su parte, Won y Kim (2012) compararon la sensibilidad para IgG anti-ABO entre Flow ABO Ab, un protocolo basado en citometría de flujo desarrollado por ellos, y la técnica de aglutinación en gel. Como resultado se observó que Flow ABO Ab mostró una tasa de positividad más alta (68%) que la técnica de aglutinación en gel (50%) en un total de 34 muestras, sin embargo, esta diferencia no se consideró significativa, lo cual sugiere que ambas técnicas presentan una sensibilidad comparable. Los autores mencionan que la técnica de aglutinación en gel es relativamente engorrosa y costosa para las pruebas de titulación porque la interpretación no es completamente objetiva y se necesitan más de 10 microcolumnas de gel para cada isotipo de inmunoglobulina por muestra. Mientras que la citometría de flujo es relativamente simple de realizar y produce resultados semicuantitativos con solo 1 tubo por muestra, no obstante, esta aplicación no se ha practicado ampliamente. (71)

El estudio de Kang *et al* (2014) mencionado anteriormente también comparaba el rendimiento diagnóstico de la citometría de flujo con la hemaglutinación, incluida la prueba en tubo y la prueba de tarjeta de gel. Los resultados mostraron que la citometría de flujo para IgM exhibía títulos más altos que los ensayos de hemaglutinación en todos los grupos sanguíneos ABO, mientras que para IgG mostró títulos más bajos, excepto para anti-B en muestras del grupo O. Sin embargo, los autores discuten la posibilidad de que los títulos más altos por citometría de flujo para IgM en comparación con la prueba en tubo o la técnica en gel se deban al efecto de amplificación del anticuerpo secundario o a la mayor proporción de suero/célula entre los tres métodos.

También, la citometría de flujo se puede emplear para la cuantificación de anticuerpos anti-A y anti-B en productos de IgIV. Un ensayo basado en FACS diseñado por Bürzle *et al* (2020) en Suiza demostró una mayor precisión en la cuantificación de isoaglutininas en comparación con el ensayo directo de la Farmacopea Europea, considerada en ese entonces, la prueba estándar para evaluar los niveles de isoaglutininas en los productos de IgIV. “La precisión del ensayo, expresada como coeficiente de variación, para el método FACS fue del

14% y el 8% para anti-A y anti-B, respectivamente, frente al 33% y el 20% con el ensayo directo.” (94)

6.5 Técnica de adherencia de glóbulos rojos en fase sólida

El ensayo de inmunoadherencia en fase sólida es una técnica inmunológica en la que uno de los reactivos, ya sea el antígeno o el anticuerpo, se inmoviliza en un medio sólido y se analiza para detectar el anticuerpo o el antígeno de interés. Los indicadores de la reacción pueden ser una fluoresceína, una enzima o glóbulos rojos. Cuando se usan glóbulos rojos como indicador se usa el término Ensayo de Adherencia de Glóbulos Rojos en Fase Sólida, abreviada como SPRCA por sus siglas en inglés (*Solid Phase Red Cell Adherence*). (95)

En el agrupamiento directo, los pocillos de microplacas se recubren con antisuero anti-A, y antisuero anti-B, luego se añade al pocillo una gota de glóbulos rojos tratados con bromelina al 0,5%. Posterior a la centrifugación, una reacción positiva se define por el borrado de los glóbulos rojos positivos al antígeno por el reactivo específico inmovilizado, mientras que las células negativas al antígeno forman un botón en el fondo del pocillo.

En caso de agrupamiento inverso, los glóbulos rojos A1 o B tratados con bromelina se inmovilizan en el fondo del pocillo y se agrega el plasma que se analizará después de la incubación a temperatura ambiente, el exceso de plasma se transfiere y se agregan glóbulos rojos indicadores unidos a anti-IgG para dar una reacción visible. (84)

Los puntos finales de reacción se pueden leer de forma manual o automática mediante un lector de microplacas, lo que permite una automatización completa de la técnica.

El estudio mencionado anteriormente realizado por Nayak *et al* (2018) comparó su desempeño con la técnica en gel empleando DTT para estimar el título de anticuerpos anti-A y anti-B isotipo IgG, demostrando que ambas técnicas tienen un desempeño similar. (90)

Por lo tanto, podemos cuantificar los anticuerpos naturales anti-A y anti-B de isotipo IgM e IgG, en conjunto o por separado, considerando los requerimientos en el protocolo de trabajo de acuerdo con las características de cada inmunoglobulina. En la Tabla 5 se presenta una comparación de distintos estudios publicados, donde se compara el isotipo de inmunoglobulina cuantificada y el método empleado (tubo, tarjeta de gel, microplaca, etc.). El estudio de Lira *et al* (2013) evaluó los títulos de anticuerpos naturales IgM anti-A y anti-B en donantes de plaquetas mediante aglutinación directa, en cambio, Gerber *et al* (2016) cuantificaron los títulos de anticuerpos IgG anti-A y anti-B en productos de IgIV mediante método directo e indirecto, además de incorporar citometría de flujo. Por lo tanto, el método de cuantificación a escoger va a depender de: isotipo de inmunoglobulina que se desee cuantificar, uso previsto del ensayo y disponibilidad de equipamiento, entre otros.

Tabla 5. Comparación de métodos de cuantificación de anticuerpos naturales en diversos estudios.

Isotipo de inmunoglobulina	Método de cuantificación	Referencia
IgM e IgG	Hemaglutinación directa en tubo	(14),(83),(96)
IgM e IgG	Técnica de aglutinación en gel	(88), (89)
IgM e IgG	Citometría de flujo	(54),(71),(89),(93),
IgG	Hemaglutinación directa en microplaca	(50), (54)

Elaboración propia Rivera, A. (2022)

CONCLUSIONES

- La terapia transfusional idealmente debería realizarse con componentes sanguíneos que sean isogrupo entre donante y receptor. No obstante, en la práctica esto no es posible en todas las transfusiones debido a que el stock de unidades es siempre escaso en los bancos de sangre y a la prevalencia del grupo O en la población. Por esto es importante mantener un stock de componentes sanguíneos grupo O, tales como plaquetas obtenidas por aféresis, para poder realizar transfusiones compatibles no isogrupo.
- Al utilizar estos componentes plasmáticos, especialmente las plaquetas obtenidas por aféresis, de pacientes grupo O, se debe tener en cuenta el riesgo de reacción hemolítica post transfusional por incompatibilidad menor, es decir, por el traspaso pasivo de anticuerpos naturales anti-A y anti-B del donante al receptor. Por lo que se sugiere realizar primero la determinación del título de anticuerpos ABO en componentes sanguíneos que contienen una cantidad significativa de plasma incompatible.
- Los factores que inciden sobre los niveles de anticuerpos naturales del sistema ABO son la dieta, especialmente el consumo de probióticos, inmunizaciones como vacunación, embarazo y/o transfusión sanguínea. No obstante, actualmente las vacunas ya no serían una fuente de aloinmunización importante, debido a las nuevas tecnologías implementadas en su fabricación.
- Al revisar las sugerencias de diversos investigadores e incluso de organizaciones nacionales e internacionales, se puede dar un acercamiento a estos títulos críticos, siendo ≥ 64 para IgM y ≥ 256 para IgG. A pesar de ello, títulos inferiores a estos no excluyen la posibilidad de reacción hemolítica post transfusional.

- Existen distintas metodologías y técnicas de cuantificación para determinar los títulos de anticuerpos naturales del sistema ABO, siendo los principales la técnica de titulación en tubo y la técnica de titulación en gel. Esta última presenta ventajas tales como un mayor rendimiento y sensibilidad analítica, presenta menor dependencia del operador, los resultados son estables por más tiempo y son fáciles de observar, además puede ser incorporada como parte de un sistema automatizado. Sin embargo, una desventaja importante es el mayor costo asociado para su implementación.

- Con la aparición de nuevas tecnologías, se han desarrollado técnicas más sofisticadas para la detección de anticuerpos del sistema ABO, como la citometría de flujo y la técnica de adherencia de glóbulos rojos en fase sólida. Pese a ello, diversos estudios han comparado estas técnicas con la técnica en microcolumna de gel y no se han encontrado diferencias significativas, lo cual sugiere que ambas técnicas presentan una sensibilidad comparable.

BIBLIOGRAFÍA

1. Kominato Y, Sano R, Takahashi Y, *et al.* (2020) Human ABO gene transcriptional regulation. *Transfusion*. 60(4):860-9.
2. Cortés, A., Muñiz-Díaz, E., León de González, G. (2014) *Inmunohematología Básica y Aplicada*. GCIAMT. Primera edición.
3. Llop R E, Henríquez B H, Moraga V M, *et al.* (2006). Caracterización molecular de alelos ABO*O del locus de grupo sanguíneo ABO en tres poblaciones chilenas. *Rev Médica Chile*.134(7):833-40.
4. A2M alfa-2-macroglobulina [Homo sapiens (humano)] - Gen - NCBI (on line). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2> [Consultado el 10 de junio de 2021]
5. Hoffman, R. *et al.* (2018). *Hematology Basic Principles and Practice*. ELSEVIER. Séptima edición.
6. *Manual Técnico American Association of Blood Banks*. (2012). Décimo séptima edición. Editorial Bethesda.
7. Cruz Roja Española (s.f.). Guía didáctica donación de sangre. Disponible en: <http://www.cruzrojajuventud.org/principal/documents/44765/62064/GU%25CDA%2520DID%25C1CTICA%2520DONACI%25D3N%2520DE%2520SANGRE%2520RED.PDF/eb5b4466-4450-4eae-a43e-1a471dd8d485> [Consultado el 12 de junio de 2021].
8. Mena, M. (2020). La distribución de los grupos sanguíneos en el mundo (on-line). Statista. Disponible en: <https://es.statista.com/grafico/21993/distribucion-de-los-grupos-sanguineos-entre-la-poblacion-por-pais--%2525/> [Consultado el 12 de Junio, 2021].
9. McLean A, Szabo F, Wang Z. (2021) ABO and Rhesus D blood groups in the Northern Territory of Australia. *Intern Med J*. 51(9):1485-9.
10. Springer G, Horton RE, Forbes M. (1959). Origin of anti-human blood group B agglutinins in white Leghorn chicks. *J Exp Med*. 110(2):221-44.
11. Springer G, Horton RE. (1969). Blood group isoantibody stimulation in man by feeding blood group-active bacteria. *J Clin Invest*. 48(7): 1280–1291.
12. Wuttke NJ, Macardle PJ, Zola H. (1997). Blood group antibodies are made by CD5+ and by CD5- B cells. *Immunol Cell Biol*. 75(5):478-83.
13. Arend P. (2013). Ancestral gene and «complementary» antibody dominate early ontogeny. *Immunobiology*. 218(5):755-61.
14. Lira ALM, Tamez RC, Chávez FP, Olachea CD. (2013). Prevalencia de disponentes de plaquetas con títulos altos de anti-A y anti-B. *Rev Latinoam Patol Clin*. 60 (4): 230-234

15. Pandey P, Anani WQ, Pugh T, Gottschall JL, Denomme GA. (2020). Complement activating ABO anti-A IgM/IgG act synergistically to cause erythrophagocytosis: implications among minor ABO incompatible transfusions. *J Transl Med.* 18(1):216.
16. Simmons DP, Savage WJ. (2015). Hemolysis from ABO Incompatibility. *Hematol Oncol Clin North Am.* 29(3):429-43.
17. Levine P, Mabee J. (1923). A Dangerous “Universal Donor” Detected by the Direct Matching of Bloods. *J Immunol.* 8(6):425-31.
18. Khampanon K, Chanprakop T, Sriwanitchrak P, *et al.* (2012). The characteristics of ABO antibodies in group O Thai blood donors. *J Clin Lab Anal.* 26(4):223-6.
19. Oyedeji OA, Adeyemo TA, Ogbenna AA, Akanmu AS. (2015). Prevalence of anti-A and anti-B hemolysis among blood group O donors in Lagos. *Niger J Clin Pract.* 18(3):328-32.
20. Yu S, Huang YW, Wang XX, Wu YQ, Lin MX, Yu Y, *et al.* (2015). Anti-A/B Antibody Titers in Group O Healthy Donors in Hainan Province Area. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi.* 23(4):1138-43.
21. Godin MM, Souza L de O, Schmidt LC, Vieira LM, Diniz RS, Dusse LMS. (2016). Dangerous universal donors: the reality of the Hemocentro in Belo Horizonte, Minas Gerais. *Rev Bras Hematol E Hemoter.* 38:193-8.
22. Fondoh VN, Ndzenjempuh N, Stella T, Fondoh RM, Awasom CN, Enow-Tanjong R, *et al.* (2022). Prevalence of alpha and beta haemolysin among blood group O donors in Bamenda, Cameroon. *Afr J Lab Med.* 11(1):1432.
23. Aguilar G, Ortiz N, Gonzales D, Loyola S, Paredes JA. High titers of anti-A1 and anti-B antibodies among Peruvian group O platelet donors. (2022). *Transfus Apher Sci Off J World Apher Assoc Off J Eur Soc Haemapheresis.* 61(3):103341.
24. Adewuyi JO, Gwanzura C. (2001). Racial difference between white and black Zimbabweans in the haemolytic activity of A, B, O antibodies. *Afr J Med Med Sci.* 30(1-2):71-4.
25. Cripps MW, Kutcher ME, Daley A, *et al.* (2013). Cause and timing of death in massively transfused trauma patients. *J Trauma Acute Care Surg.* 75(2 Suppl 2):S255-262.
26. Dishong D, Cap AP, Holcomb JB, Triulzi DJ, Yazer MH. (2021). The rebirth of the cool: a narrative review of the clinical outcomes of cold stored low titer group O whole blood recipients compared to conventional component recipients in trauma. *Hematology.* 26(1):601-11.
27. Pidcoke HF, McFaul SJ, Ramasubramanian AK, *et al.* (2013). Primary hemostatic capacity of whole blood: a comprehensive analysis of pathogen reduction and refrigeration effects over time. *Transfusion.* 53 Suppl 1:137S-149S.

28. Reddoch KM, Pidcoke HF, Montgomery RK, et al. (2014). Hemostatic function of apheresis platelets stored at 4°C and 22°C. *Shock* Augusta Ga. 41 Suppl 1:54-61.
29. Bailey JD, Fisher AD, Yazer MH, et al. (2019). Changes in donor antibody titer levels over time in a military group O low-titer whole blood program. *Transfusion*. 59(S2):1499-506.
30. Avery P, Morton S, Tucker H, et al. (2020). Whole blood transfusion versus component therapy in adult trauma patients with acute major haemorrhage. *Emerg Med J EMJ*. 37(6):370-8.
31. Gallaher JR, Dixon A, Cockcroft A, et al. (2020). Large volume transfusion with whole blood is safe compared with component therapy. *J Trauma Acute Care Surg*. 89(1):238-45.
32. Hanna K, Bible L, Chehab M, Asmar S, Douglas M, Ditillo M, et al. (2020). Nationwide analysis of whole blood hemostatic resuscitation in civilian trauma. *J Trauma Acute Care Surg*. 89(2):329-35.
33. Nowadly CD, Fisher AD, Borgman MA, et al. (2021). The use of whole blood transfusion during non-traumatic resuscitation. *Mil Med*. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/milmed/usab128>
34. Himmler A, Galarza Armijos ME, Naranjo JR, et al. (2021). Is the whole greater than the sum of its parts? The implementation and outcomes of a whole blood program in Ecuador. *Trauma Surg Acute Care Open*. 6(1):e000758.
35. Cortés, Armando. (2012). *Aplicaciones y práctica de la medicina transfusional*. Primera edición. GCIAMT
36. Ministerio de Salud. (2013). Norma General Técnica «Estándares para la obtención de componentes sanguíneos y gestión de inventario o stock».
37. Josephson CD, Castillejo MI, Grima K, Hillyer CD. (2010). ABO-mismatched platelet transfusions: strategies to mitigate patient exposure to naturally occurring hemolytic antibodies. *Transfus Apher Sci Off J World Apher Assoc Off J Eur Soc Haemapheresis*. 42(1):83-8.
38. Sadani DT, Urbaniak SJ, Bruce M, Tighe JE. (2006). Repeat ABO-incompatible platelet transfusions leading to haemolytic transfusion reaction. *Transfus Med Oxf Engl*. 16(5):375-9.
39. Malvik N, Leon J, Schlueter AJ, et al. (2020). ABO-incompatible platelets are associated with increased transfusion reaction rates. *Transfusion*. 60(2):285-93.
40. Josephson CD, Mullis NC, Van Demark C, Hillyer CD. (2004). Significant numbers of apheresis-derived group O platelet units have «high-titer» anti-A/A,B: implications for transfusion policy. *Transfusion*. 44(6):805-8.

41. Massey, E. (2019). High Titre Anti-A/B Testing of Donors within NHS Blood and Transplant. NBS Transfusion Medicine Clinical Policies Group.
42. Romphruk AV, Cheunta S, Pakoate L, et al. (2012). Preparation of single donor platelet with low antibody titers for all patients. *Transfus Apher Sci Off J World Apher Assoc Off J Eur Soc Haemapheresis*. 46(2):125-8.
43. Kc G, Murugesan M, Nayanar SK, Malodan R, Padmanaban M. (2021). Comparison of ABO antibody levels in apheresis platelets suspended in platelet additive solution and plasma. *Hematol Transfus Cell Ther*. 43(2):179-84.
44. Basu D, Basu S, Radhakrishnan VS, et al. (2021). Comparison of Quality and Efficacy of Apheresis Platelets Stored in Platelet Additive Solution Vis a Vis Plasma. *Indian J Hematol Blood Transfus Off J Indian Soc Hematol Blood Transfus*. 37(4):648-57.
45. Branch, DR. (2015). Anti-A and anti-B: what are they and where do they come from? *Transfusion*. 55 Suppl 2:S74-79.
46. McVey J, Baker D, Parti R, et al. (2015). Anti-A and anti-B titers in donor plasma, plasma pools, and immunoglobulin final products. *Transfusion*. 55 Suppl 2:S98-104.
47. Padmore, R. (2015). Possible mechanisms for intravenous immunoglobulin-associated hemolysis: clues obtained from review of clinical case reports. *Transfusion*. 55 Suppl 2:S59-64.
48. Daw Z, Padmore R, Neurath D, et al. (2008). Hemolytic transfusion reactions after administration of intravenous immune (gamma) globulin: a case series analysis. *Transfusion*. 48(8):1598-601.
49. Pendergrast J, Armali C, Callum J, et al. (2021). A prospective observational study of the incidence, natural history, and risk factors for intravenous immunoglobulin-mediated hemolysis. *Transfusion*. 61(4):1053-63.
50. Bruggeman CW, Nagelkerke SQ, Lau W, et al. (2020). Treatment-associated hemolysis in Kawasaki disease: association with blood-group antibody titers in IVIG products. *Blood Adv*. 4(14):3416-26.
51. Jacobs J, Kneib J, Gabbard A. (2020). Intravenous Immunoglobulin-Associated Hemolytic Anemia. *Lab Med*. 51(5):e47-50.
52. Simon TL, McCullough J, Snyder EL, et al. (2016). *Rossi's Principles of Transfusion Medicine*. Quinta edición.
53. Farmacopea Europea (PhEur). (2016). Capítulo 2.6.20: Hemaglutininas anti-A y anti-B, método A y B. 8ª edición. pags. 203-4.
54. Gerber S, Gaida A, Spiegl N, et al. (2016). Reduction of Isoagglutinin in Intravenous Immunoglobulin (IVIG) Using Blood Group A- and B-Specific Immunoaffinity

- Chromatography: Industry-Scale Assessment. *BioDrugs Clin Immunother Biopharm Gene Ther.* 30(5):441-51.
55. Shebl A, Gabriel S, Van Dinther K, et al. (2020). Isoagglutinin reduction in intravenous immunoglobulin (IgPro10, Privigen) by specific immunoaffinity chromatography reduces its reporting rates of hemolytic reactions: an analysis of spontaneous adverse event reports. *Transfusion.* 60(6):1278-1286.
 56. Huh Y, Lichtiger B. (1995). Nonhemolytic Transfusion Reaction to Platelet Concentrates: Induction by Cytokines Released during Storage. *Curr Issues Transfus Med.* 4(1). Disponible en: <http://www3.mdanderson.org/~citm/H-95-01.html>
 57. Moinuddin, I, Millward, P, Fletcher, C. (2019). Acute Intravascular Hemolysis Following and ABO Non-Identical Platelet Transfusion: A Case Report and Literature Review. *Am J Case Rep.* 20:1075-9.
 58. Pietersz R, Engelfriet C, Reesink H. (2005). Transfusion of apheresis platelets and ABO groups. *Vox Sanguinis.* 88(3):207-21.
 59. Strandenes G, Berséus O, Cap AP, Hervig T, Reade M, Prat N, et al. (2014). Low titer group O whole blood in emergency situations. *Shock Augusta Ga.* 41 Suppl 1:70-5.
 60. Serious Hazards of Transfusion (SHOT). (1998). SHOT Annual Report 1996-1997.
 61. Hanna M, Knittel J, Gillihan J. (2022). The Use of Whole Blood Transfusion in Trauma. *Curr Anesthesiol Rep.* 12(2):234-9.
 62. Berséus O, Boman K, Nessen SC, Westerberg LA. (2013). Risks of hemolysis due to anti-A and anti-B caused by the transfusion of blood or blood components containing ABO-incompatible plasma. *Transfusion.* 53 Suppl 1:114S-123S.
 63. La Fata G, Weber P, Mohajeri MH. (2018). Probiotics and the Gut Immune System: Indirect Regulation. *Probiotics Antimicrob Proteins.* 10(1):11-21.
 64. Peters VBM, van de Steeg E, van Bilsen J, Meijerink M. (2019). Mechanisms and immunomodulatory properties of pre- and probiotics. *Benef Microbes.* 10(3):225-36.
 65. Aguilar, E., Vásquez, M. (2014). Influencia de la ingesta de probióticos en los niveles de anticuerpos del sistema sanguíneo ABO. Universidad de Talca, Chile. Escuela de Tecnología Médica.
 66. Daniel-Johnson J, Leitman S, Klein H, et al. (2009). Probiotic-associated high-titer anti-B in a group A platelet donor as a cause of severe hemolytic transfusion reactions. *Transfusion.* 49(9):1845-9.
 67. Mazda T, Yabe R, NaThalang O, et al. (2007). Differences in ABO antibody levels among blood donors: a comparison between past and present Japanese, Laotian, and Thai populations. *Immunohematology.* 23(1):38-41.

68. Thomsen, O. and Kettel, K. (1929). The titers of human isoagglutinins and corresponding red cell receptors at different ages. *Immun-Forsch.* 63-7.
69. Rieben R, Buchs JP, Flückiger E, Nydegger UE. (1991). Antibodies to histo-blood group substances A and B: agglutination titers, Ig class, and IgG subclasses in healthy persons of different age categories. *Transfusion.* 31(7):607-15.
70. Auf der Maur C, Hodel M, Nydegger UE, Rieben R. (1993). Age dependency of ABO histo-blood group antibodies: reexamination of an old dogma. *Transfusion.* 33(11):915-8.
71. Won, D. & Kim, D. C. (2012). Optimized flow cytometry to measure anti-ABO immunoglobulin G. *Lab Med.* 43(6):281-90.
72. Vilambil S, Dharmadas M, Usha KKC, et al. (2017). Frequency of Antibodies in Haemolytic Disease of Foetus and Newborn. *J Evol Med Dent Sci-Jemds.* 6(66):4751-6.
73. Roberts, I. (2008). The changing face of haemolytic disease of the newborn. *Early Hum Dev.* 2008 Aug;84(8):515-23.
74. Doyle B, Quigley J, Lambert M, et al. (2014). A correlation between severe haemolytic disease of the fetus and newborn and maternal ABO blood group. *Transfus Med.* 24(4):239-43.
75. Ministerio de Salud, Desarrollo Social y Deportes. (2022). Vacunas, Maletín Educativo de Salud. Gobierno de Mendoza. Disponible en: <https://www.mendoza.gov.ar/salud/wp-content/uploads/sites/7/2020/08/vacunas-contenidos.pdf>
76. Berséus, O. (2017). Effects on the anti-ABO titers of military blood donors from a predeployment vaccination program. *J Trauma Acute Care Surg.* 82(6S Suppl 1):S91-5.
77. Boyer KM, Theeravuthichai J, Vogel LC, et al. (1981). Antibody response to group B streptococcus type III and AB blood group antigens induced by pneumococcal vaccine. *J Pediatr.* 98(3):374-8.
78. Elliott GB. (1954). Transiently dangerous universal blood donor. *Can Med Assoc J.* 70(5):571-4.
79. Kolkman MAB, Wakarchuk W, Nuijten PJM, Van Der Zeijst BAM. (1997). Capsular polysaccharide synthesis in *Streptococcus pneumoniae* serotype 14: molecular analysis of the complete cps locus and identification of genes encoding glycosyltransferases required for the biosynthesis of the tetrasaccharide subunit. *Mol Microbiol.* 26(1):197-208.
80. Siber GR, Ambrosino DM, Gorgone BC. (1982). Blood-group-A-like substance in a preparation of pneumococcal vaccine. *Ann Intern Med.* 96(5):580-6.

81. Rosell, S. (2011). Inmunohematología de serie roja. Bases teórico-prácticas. Fundación Hemocentro Buenos Aires. Disponible en: <http://www.hemobaires.org.ar/pdfs/1-Fund%20teorico%20practicos%20inmunoh%20serie%20roja.pdf>
82. Rodríguez, L. (2017). El laboratorio de inmunohematología. Asociación Mexicana de Medicina Transfusional. Vol. 10, Núm. 1, pp 5-13.
83. Arellano, M., Vásquez, M. (2006). Cuantificación de anticuerpos naturales e inmunes de sistema ABO en donantes de sangre grupo O del Hospital Regional de Talca Universidad de Talca, Chile. Escuela de Tecnología Médica.
84. Bajpai M, Kaur R, Gupta E. (2012). Automation in Immunochemistry. Asian J Transfus Sci. 6(2):140.
85. Finck R, Lui-Deguzman C, Teng SM, et al. (2013). Comparison of a gel microcolumn assay with the conventional tube test for red blood cell alloantibody titration. Transfusion. 53(4):811-5.
86. Shirey RS, Cai W, Montgomery RA, et al. (2010). Streamlining ABO antibody titrations for monitoring ABO-incompatible kidney transplants. Transfusion. 50(3):631-4.
87. Kumlien G, Wilpert J, Säfwenbergh J, Tydén G. (2007). Comparing the Tube and Gel Techniques for ABO Antibody Titration, as Performed in Three European Centers. Transplantation. 84(12S):S17.
88. Park ES, Jo KI, Shin JW, et al. (2014). Comparison of total and IgG ABO antibody titers in healthy individuals by using tube and column agglutination techniques. Ann Lab Med. 34(3):223-9.
89. Kang SJ, Lim YA, Baik SY. (2014). Comparison of ABO Antibody Titers on the Basis of the Antibody Detection Method Used. Ann Lab Med. 34(4):300-6.
90. Nayak S, Makroo RN, Prakash B, et al. (2019). Comparative Evaluation of Five Different Methods of Anti-ABO Antibody Titration: An Aid for ABO-Incompatible Organ Transplants. Ther Apher Dial Off Peer-Rev J Int Soc Apher Jpn Soc Apher Jpn Soc Dial Ther. 23(1):86-91.
91. AuBuchon JP, de Wildt-Eggen J, Dumont LJ. (2008). Biomedical Excellence for Safer Transfusion Collaborative, Transfusion Medicine Resource Committee of the College of American Pathologists. Reducing the variation in performance of antibody titrations. Arch Pathol Lab Med. 132(7):1194-201.
92. McKinnon KM. (2018). Flow Cytometry: An Overview. Curr Protoc Immunol. 120(1):5.1.1-5.1.11.
93. Stussi G, Huggel K, Lutz HU, et al. (2005). Isotype-specific detection of ABO blood group antibodies using a novel flow cytometric method. Br J Haematol. 130(6):954-63.

94. Bürzle M, Hubsch A, Spiegl N, Roten T, Marques A, Martig L, et al. (2020). Measurement of isoagglutinins in immunoglobulins for intravenous application by flow cytometry. *Anal Biochem.* 591:113534.
95. Ching E. (2012). Solid Phase Red Cell Adherence Assay: a tubeless method for pretransfusion testing and other applications in transfusion science. *Transfus Apher Sci Off J World Apher Assoc Off J Eur Soc Haemapheresis.* 46(3):287-91.
96. Beddard R, Ngamsuntikul S, Wafford T, Aranda L. (2019). Immunoglobulin M anti-A and anti-B titers in South Texas group O D+ male donors. *Transfusion.* 59(7):2207-2210.