

APRUEBA "RECOMENDACIONES PARA LA DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS IRREGULARES ERITROCITARIOS", ELABORADAS POR EL DEPARTAMENTO LABORATORIO BIOMÉDICO NACIONAL Y DE REFERENCIA DEL INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE Y DEJA SIN EFECTO LA RESOLUCIÓN EXENTA N° 3270 DE 18 DE DICIEMBRE DE 2014.

RESOLUCIÓN EXENTA N° 00403 20.02.2023

SANTIAGO,

VISTOS estos antecedentes; la Providencia Interna N° 324, de fecha 14 de febrero de 2023, de la Jefa (S) de Asesoría Jurídica; la Providencia N° 1779, de fecha 20 de diciembre de 2022, del Director (S) del Instituto; el Memorándum N° 469, de fecha 16 de diciembre de 2022, de la Jefa del Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia, y

CONSIDERANDO

PRIMERO: Que, el inciso final del artículo 57 del D.F.L. N° 1, de 2005, del Ministerio de Salud, dispone que el Instituto de Salud Pública *"servirá de laboratorio nacional y de referencia en los campos de la microbiología, inmunología, bromatología, farmacología, imagenología, radioterapia, bancos de sangre, laboratorio clínico, contaminación ambiental y salud ocupacional y desempeñará las demás funciones que le asigna la presente ley"*.

SEGUNDO: Que, mediante Resolución Exenta N° 3270 de 18 de diciembre de 2014, fueron aprobadas las "Recomendaciones para la detección e identificación de anticuerpos irregulares eritrocitarios", documento que recogió las opiniones y sugerencias de los participantes del X Taller Nacional para Centros de Sangre y Unidades de Medicina Transfusional realizado en mayo de 2013, y que fue consensuado con el Comité de Expertos del Programa de Evaluación Externa de la Calidad (PEEC) del área de la inmunohematología de este Instituto.

TERCERO: Que, se ha estimado necesario por parte del Departamento Laboratorio Biomédico y de Referencia de este Instituto, actualizar las mencionadas recomendaciones, de tal forma que éstas permitan continuar contribuyendo a la obtención de resultados confiables, reproducibles y trazables.

TENIENDO PRESENTE lo dispuesto en la Ley N° 18.575; lo prescrito en la Ley N° 19.880; lo señalado en los artículos 59 letra b), 60 y 61 del D.F.L. N° 1, de 2005, del Ministerio de Salud; lo prescrito en los artículos 8 y 10 letra a) del Decreto Supremo N° 1222, de 1996, del Ministerio de Salud, que aprueba el Reglamento del Instituto de Salud Pública de Chile; en el Decreto Supremo 825, de 1998, del Ministerio de Salud; en los artículos 111 y siguientes el Código Sanitario; lo previsto en la Resolución Exenta N° 7, de 2019, de la Contraloría General de la República; y las facultades que me confiere el Decreto Supremo N° 3, de 2023, del Ministerio de Salud, dicto la siguiente:

RESOLUCIÓN

1.- **APRUEBASE** las "Recomendaciones para la detección e identificación de anticuerpos irregulares eritrocitarios", cuyo texto íntegro es el siguiente:

"RECOMENDACIONES PARA LA DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS IRREGULARES ERITROCITARIOS

AUTOR

TM. Andrés Aburto Almonacid. Sección Hematología e Inmunohematología. Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia. Instituto de Salud Pública de Chile.

REVISORES INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE

Dra. Verónica Ramírez Muñoz. Subdepartamento Coordinación Externa. Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.

BQ. Hugo Moscoso Espinoza. Subdepartamento Enfermedades No Transmisibles. Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.

TM. Eduardo Retamales Castelletto. Sección Hematología e Inmunohematología. Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.

TM. Diego Zapata Tapia. Sección Hematología e Inmunohematología. Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.

REVISORES EXTERNOS

Comité de Expertos PEEC Inmunohematología

TM. Guillermo Herrera Calderón. Red Salud UC Christus.

Dra. María Cristina Martínez Valenzuela. Centro de Sangre Concepción.

Dra. María Antonieta Núñez Ahumada. Clínica Santa María.

TM. Ramón Schifferli Salazar. Centro de Sangre y Tejidos de Valparaíso.

TM. Carolina Villalobos Urbina. Complejo Asistencial Barros Luco Trudeau.

RESUMEN

Este documento presenta una actualización de la primera versión de recomendaciones para el procedimiento de detección e identificación de anticuerpos irregulares del año 2014, y está dirigido a los Centros de Sangre, Unidades de Medicina Transfusional, Bancos de Sangre y Laboratorios Clínicos. Para su elaboración se reunieron las opiniones y sugerencias de los participantes del X Taller Nacional para Centros de Sangre y Unidades de Medicina Transfusional, y ha sido consensuado con el Comité de Expertos PEEC del área de Inmunohematología del Instituto de Salud Pública de Chile.

Este documento entrega las directrices para la realización de una correcta detección e identificación de anticuerpos irregulares, a fin de contribuir a asegurar la calidad de estos estudios inmunohematológicos en los servicios de sangre de cada institución.

OBJETIVO

El objetivo de estas recomendaciones es disponer de metodologías para la detección e identificación de anticuerpos irregulares contra antígenos eritrocitarios que contribuya a la obtención de resultados confiables, reproducibles y trazables.

ALCANCE

Estas recomendaciones aplican a los Centros de Sangre, Unidades de Medicina Transfusional, Bancos de Sangre y Laboratorios Clínicos que realizan detección con o sin identificación de anticuerpos irregulares eritrocitarios en la sangre de donantes, pacientes y embarazadas.

INTRODUCCIÓN

Los anticuerpos irregulares corresponden a aquellos anticuerpos producto de una respuesta inmune, distintos a los anticuerpos naturales del sistema ABO, que pueden aparecer en respuesta a la exposición a un antígeno eritrocitario extraño (transfusión o trasplante), o por incompatibilidad materno-fetal (embarazo). En nuestro país, los anticuerpos irregulares más frecuentemente encontrados en donantes de sangre son: anti-Le^a, anti-E y anti-D, mientras que en pacientes son: anti-D, anti-E y anti-K. Todos estos anticuerpos son capaces de provocar hemólisis *in vivo* y acortamiento en la sobrevivencia normal de los glóbulos rojos (Anexo 1).

La heterogeneidad de los anticuerpos, en cuanto a su clase, temperatura de reacción, tipo de hemólisis asociada, su capacidad de activar complemento entre otras características, hacen que la pesquisa e identificación de ellos, deba hacerse de una manera estandarizada y controlada.

La detección e identificación de anticuerpos irregulares habitualmente se realiza mediante técnicas de aglutinación en tubo, en columna o en microplaca (fase sólida); con etapas a temperatura ambiente, 37°C y en presencia de antiglobulina humana. En algunas ocasiones y de acuerdo a condiciones observadas en cada laboratorio, se puede realizar análisis a 4°C frente a la sospecha de crioaglutininas.

Según los datos obtenidos del subprograma PEEC de Detección e identificación de anticuerpos irregulares el año 2021, de 146 laboratorios participantes en la detección, se utilizaron los siguientes métodos: aglutinación en columna (84,2%), PAI LISS (9,6%), Capture (fase sólida) (3,4%), PAI Salino (2,7%); mientras que, los 55 laboratorios participantes en la identificación utilizaron aglutinación en columna (89,1%), Capture (fase sólida) (7,3%), PAI LISS (3,6%).

Como establecen las normativas nacionales, entre ellas la Guía Técnica: Orientaciones sobre las Unidades de Medicina Transfusional del año 2013, los aloanticuerpos detectados deben ser identificados para determinar su especificidad, lo que permitirá deducir su significado clínico que asegure la preparación de componentes sanguíneos compatibles, empleando un enfoque sistemático descrito en el algoritmo (Anexo 2).

DEFINICIONES Y ABREVIACIONES

a) Abreviaciones:

ACD: Ácido cítrico, citrato, dextrosa.

CE: Comunidad Europea

CI: Centrifugación Inmediata

EDTA: Ácido Etilendiaminetetraacético.

FDA: Food and Drug Administration

GR: Glóbulos Rojos

LISS: Solución de Baja Fuerza Iónica

NISS: Solución Salina de fuerza iónica normal

PA: Prueba Autóloga

PAD: Prueba Antiglobulina Directa

PBS: buffer fosfato salino pH 6.9 a 7.2

SAGH: Suero Antiglobulina Humana

b) Definición de conceptos

- Aloanticuerpo: anticuerpo producido en un individuo que está dirigido contra antígenos eritrocitarios que él carece, presentes en otro individuo de su misma especie.

- Autoanticuerpo: anticuerpo producido en un individuo que está dirigido contra antígenos que expresan sus propios eritrocitos.
- Identificación básica de anticuerpos irregulares: procedimiento del laboratorio de inmunohematología que permite identificar la especificidad (mayor probabilidad) de la mayoría de los anticuerpos eritrocitarios de importancia clínica. Involucra el uso de células panel de identificación básico y técnicas con potenciadores de reacción (suero antiglobulina humana poliespecífico y solución LISS), que permiten determinar la especificidad de anticuerpos únicos o algunas mezclas de anticuerpos.

DESARROLLO

I. DETECCIÓN DE ANTICUERPOS IRREGULARES

a) Muestras

Suero o plasma obtenido a partir de sangre total sin o con anticoagulante (EDTA, ACD), respectivamente, de acuerdo a las especificaciones del fabricante del método o reactivo que utiliza. El uso de plasma podría impedir la detección de anticuerpos irregulares que se revelan solamente por la presencia de complemento adherido a los eritrocitos. Para estudios automatizados, se requiere plasma y en tests manuales, es deseable el uso de suero. Las muestras para estudio deben ser almacenadas a 4°C y las pruebas deben ser realizadas dentro del día, en el menor tiempo posible, no excediendo las 72 horas desde su obtención.

b) Reactivos

- ✓ Células Panel para detección de anticuerpos irregulares: sets comerciales de 2 o 3 frascos y en concentración establecida para cada tipo de técnica. Ej. Tubo: 2-4%, Columna: 0,8-1%. Estas células deben tener certificación de fabricación ISO 13485 o estar aprobadas por organismos (FDA, CE), sobre su capacidad de detectar anticuerpos clínicamente significativos, debiendo expresar al menos los siguientes antígenos: D, C, E, c, e, M, N, S, s, P1, Le^a, Le^b, K, k, Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b y Di^a. El laboratorio debiese disponer de reactivos con expresiones homocigotas para los antígenos D, C, E, S, s, Fy^a, Fy^b, Jk^a y Jk^b.
- ✓ En los sets de dos células, uno de los frascos debe ser R₁/R₁ y el otro R₂/R₂, en los sets de tres células, el tercero debe ser r/r.
- ✓ Suero Antiglobulina Humana: tipo poliespecífico, apropiado para cada tipo de técnica (incorporado en los sistemas de aglutinación en columna o en presentaciones para su utilización en tubos o en microplacas).
- ✓ LISS: de acuerdo a la estandarización del reactivo o a las instrucciones del fabricante (incorporado en los sistemas de aglutinación en columna o en presentaciones para su utilización en tubos o en microplacas).
- ✓ Suero AB inerte: plasma convertido en suero y calentado a 56°C por 1 hora.
- ✓ Solución diluyente recomendada para la técnica utilizada, suero fisiológico tamponado o PBS.

c) Técnicas

Los métodos de detección disponible son: hemaglutinación en tubo, adhesión de eritrocitos en fase sólida (microplaca) y hemaglutinación en columnas. En los dos últimos métodos se dispone de sistemas semiautomatizados y automatizados, a diferencia del método en tubo que corresponde a una técnica manual.

d) Procedimiento

1. Identificar las muestras a estudiar y centrifugarlas de acuerdo al tiempo estandarizado en la centrífuga, para obtener suero o plasma.
2. Verificar que los reactivos estén vigentes y que tanto reactivos como equipos cumplan con los parámetros definidos en el control de calidad del laboratorio de inmunohematología.

- Las células panel deben utilizarse a la concentración establecida por el fabricante para realizar la técnica.
- Para cada muestra a procesar se deben realizar en forma independiente las siguientes reacciones, utilizando volúmenes de suero o plasma y suspensión de glóbulos rojos de acuerdo a la técnica empleada: (ver tabla 1).

Tabla 1: Reacciones utilizadas en la detección de anticuerpos irregulares.

Tubo, columna o microplaca	Suero o Plasma	Glóbulos Rojos (*)	Utilidad
Reacción I	Muestra en estudio	Panel I (R ₁ /R ₁)	Detección de anticuerpos irregulares dirigidos hacia antígenos presentes en el Panel I
Reacción II	Muestra en estudio	Panel II (R ₂ /R ₂)	Detección de anticuerpos irregulares dirigidos hacia antígenos presentes en el Panel II
Reacción III	Muestra en estudio	Panel III (r/r)	Detección de anticuerpos irregulares dirigidos hacia antígenos presentes en el Panel III (opcional)

(*) Cada célula panel debe ser utilizada en la concentración establecida por el fabricante a la técnica usada.

- Mezclar y centrifugar de acuerdo a la calibración para lectura de aglutinación de la centrifuga, o a los tiempos y revoluciones establecidas por el inserto de la técnica utilizada.
- Observar en busca de aglutinación y/o hemólisis, de acuerdo a la técnica de lectura automatizada que indique el fabricante o técnica manual estandarizada en el laboratorio.
- Registrar los resultados obtenidos en intensidad de cruces, de acuerdo a la tabla de reacción del Anexo 3.
- Dependiendo de la técnica utilizada, el procedimiento debe asegurar que se cumplan las distintas etapas de lectura propias de la técnica:
 - **Tubo:** Se recomienda realizar en medio de LISS-Coombs por su mayor sensibilidad que el medio NISS. La lectura se puede realizar en tres etapas, permitiendo diferenciar anticuerpos que actúan en salino a temperatura ambiente, en salino a 37°C y con SAGH, permitiendo inferir la clase de inmunoglobulina (IgM y/o IgG) y la temperatura óptima a la cual son activas.
 - **Agglutinación en columna:** la lectura se realiza en una etapa, permitiendo detectar principalmente los anticuerpos clínicamente significativos, pero no estableciendo la clase de inmunoglobulina y la temperatura óptima a la cual son activas. También es posible detectar anticuerpos de clase IgM que presentan amplio rango térmico.
 - **Adhesión de eritrocitos en fase sólida:** la membrana eritrocitaria está adherida a los pocillos (fase sólida) a la que se adiciona la muestra de plasma o suero. La reacción se evidencia por la adición de células indicadoras que corresponden a eritrocitos que tienen anticuerpos unidos.

e) Interpretación

Ejemplos de reacciones que pueden observarse en detección de anticuerpos irregulares, se muestran en la tabla 2.

Tabla 2: Ejemplos de reacciones observadas en la detección de anticuerpos irregulares.

Reacción Panel I	Reacción Panel II	Reacción Panel III	Resultado de Detección de Anticuerpos	Interpretación
+	0	0	Positivo	Aloanticuerpo
0	+	0	Positivo	Aloanticuerpo
+	+	0	Positivo	Aloanticuerpo
0	0	0	Negativo	Ausencia de Anticuerpos
+	+	+	Positivo	Aloanticuerpo y/o Autoanticuerpo

0 = No hay reacción de aglutinación
 + = Aglutinación de cualquier intensidad (4+, 3+, 2+, 1+)

f) Informe de resultados

La denominación recomendada para el informe del resultado de este estudio es:

DETECCIÓN DE ANTICUERPOS IRREGULARES: positivo; negativo (según corresponda al paciente o donante estudiado).

En caso de ser positivo, se recomienda registrar las alternativas posibles de especificidades de los anticuerpos detectados de acuerdo al panel utilizado. Se adjunta en Anexo 4, propuesta de registro de resultados.

II. IDENTIFICACIÓN BÁSICA DE ANTICUERPOS IRREGULARES

a) Muestras

La identificación de anticuerpos irregulares debe realizarse con muestras sanguíneas con las mismas características definidas en este documento para la Detección de Anticuerpos Irregulares, en su punto I.a). Para el estudio de mezclas de anticuerpos complejos o múltiples, es fundamental disponer necesariamente de los glóbulos rojos de la muestra para realizar estudios de fenotipificación, autocontrol o PAD.

La solicitud de examen que acompaña a la muestra debe incluir al menos la identificación completa del paciente (nombre con dos apellidos), fecha, procedencia, edad, sexo, pertenencia a alguna etnia, historial médico con especial énfasis en historia transfusional reciente, embarazos, patologías asociadas, consumo de algún medicamento, etc., lo que será de utilidad en el proceso de identificación de anticuerpos e interpretación de resultados.

b) Reactivos

- ✓ Células Panel para identificación de anticuerpos irregulares: El panel básico de identificación generalmente presenta entre 8 a 11 frascos de células con diferentes especificidades antigénicas. Existen estos paneles de células en presentaciones de hasta 16 tipos glóbulos rojos de distintos donantes. La elección del tipo de panel debe ser realizada en base a las características del laboratorio, el tipo de pacientes que atiende y las estadísticas de los casos estudiados en el curso de un año es deseable que el laboratorio construya tablas con la prevalencia de las especificidades identificadas durante el año. El panel debe permitir que se identifiquen claramente las especificidades de los aloanticuerpos más prevalentes en la población y de mayor importancia clínica (Anexo 1). Debe verificarse y considerarse las siguientes características básicas del panel de identificación:

- a) Presentar especificidades para los siguientes antígenos: D, C, E, c, e, M, N, S, s, P1, Le^a, Le^b, K, k, Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b y Di^a.
 - b) Poseer al menos dos células panel que presenten y dos células panel que carezcan de los antígenos señalados en el punto anterior. En la tabla de trabajo (Anexo 5) se puede observar que los antígenos e y k no cumplen esta regla, por lo que se debe incorporar al análisis, las células del panel de detección de anticuerpos irregulares, logrando así cumplir esta regla.
 - c) Disponer de células con doble dosis (homocigotas) especialmente de los antígenos Jk^a, Jk^b, S, s, Fy^a, y Fy^b, ya que estos antígenos se expresan más débilmente cuando los genes involucrados están en forma heterocigota.
 - d) Poseer células R₂R₂ (cDE/cDE) para la identificación de anti-e. Además, de células r'r (Cde/cde) y r''r (cdE/cde) para identificar anti-E y anti-C en la presencia de anti-D (combinaciones frecuentes).
 - e) Poseer células rr (cde/cde) en el panel y que entre ellas expresen los antígenos K, Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b, M, S, s, de preferencia al estado homocigoto, de manera de poder evidenciar la presencia de ellos junto al anti-D, dada la frecuencia de este anticuerpo.
 - f) Verificar que el inserto de especificación del reactivo y la tabla de trabajo que vienen con el panel, coincidan con el número de lote del reactivo. Este punto es muy importante al momento de querer interpretar los resultados.
 - g) Las células panel no deben utilizarse más allá de la fecha de expiración indicada por el fabricante.
 - h) Cada laboratorio, de acuerdo a su realidad (frecuencia de anticuerpos irregulares, características étnicas de la población que atiende, entre otras), debe definir al momento de su compra, características especiales del panel a utilizar.
- ✓ Suero Antiglobulina Humana: Ver punto Ib) de Detección de anticuerpos irregulares.
 - ✓ LISS: de acuerdo a la estandarización del reactivo o a las recomendaciones del fabricante, en caso de ser usado para esta metodología (incorporado en los sistemas de aglutinación en columna o en presentaciones para su utilización en tubos).
 - ✓ Solución diluyente recomendada para la técnica utilizada, suero fisiológico tamponado o PBS.

c.- Técnicas

Existen técnicas manuales, semiautomatizadas y automatizadas, en tubo, columna y microplaca.

d.- Procedimiento

1. Rotular la muestra a investigar y centrifugarla de acuerdo al tiempo estandarizado en la centrífuga para obtener suero o plasma.
2. Verificar que los reactivos estén vigentes y que tanto reactivos como equipos cumplan con los parámetros definidos en el control de calidad del laboratorio de inmunohematología. Las células panel deben utilizarse a la concentración definida para la técnica a realizar en el inserto del fabricante.
3. Verificar que la hoja de trabajo del panel de identificación está disponible y su número de lote corresponde al del reactivo que se utilizará.
4. Para cada muestra a procesar, se deben efectuar tantas reacciones de acuerdo al número de células panel básico utilizado en el laboratorio: ver tabla 3.

Tabla 3: Reacciones utilizadas en la identificación de anticuerpos irregulares.

Tubo, columna o microplaca	Suero o Plasma	Glóbulos Rojos	Utilidad
Reacción 1	Muestra en estudio	Panel 1	Detectar reacción de acuerdo al fenotipo del Panel 1
Reacción 2	Muestra en estudio	Panel 2	Detectar reacción de acuerdo al fenotipo del Panel 2
Reacción 3	Muestra en estudio	Panel 3	Detectar reacción de acuerdo al fenotipo del Panel 3
Reacción n*	Muestra en estudio	Panel "n"	Detectar reacción de acuerdo al fenotipo del Panel "n"
PA	Muestra en estudio	Muestra en estudio	Determinación de presencia de autoanticuerpo

*n: número de células del panel utilizadas en la identificación. Cada célula panel y muestra en estudio debe ser utilizada en la concentración establecida por el fabricante a la técnica usada.

- 5. Mezclar y centrifugar de acuerdo a la calibración de la centrífuga para lectura, o a los tiempos y revoluciones establecidas por el fabricante.
 - 6. Observar en busca de aglutinación y/o hemólisis, de acuerdo a la técnica de lectura automatizada o manual que recomiende el fabricante.
 - 7. Registrar los resultados obtenidos en intensidad de cruces, de acuerdo a la tabla de reacción del Anexo 3.
 - 8. Dependiendo de la técnica definida en sus protocolos, debe asegurarse de cumplir con las distintas etapas de lectura que se requieren:
- **Tubo:** la lectura realizada en las tres etapas, permite diferenciar la detección de anticuerpos que actúan a temperatura ambiente, a 37°C y con SAGH. Además, la lectura y el registro de las intensidades en cruces puede orientar a la especificidad de un solo anticuerpo o a una mezcla de ellos.
- **Agglutinación en columna:** la lectura se puede realizar en una etapa, permitiendo detectar los anticuerpos clínicamente significativos, pero no permite establecer la clase y la temperatura a la cual ellos son activos. El análisis de las intensidades en cruces puede orientar a la especificidad de un solo anticuerpo o a una mezcla de ellos.

e.- Interpretación

La asignación de la identificación de anticuerpos irregulares, debe realizarse a través de la interpretación del registro de los resultados de las reacciones señaladas en la tabla de trabajo (Anexo 5). Es importante verificar que ella corresponda al lote de panel celular que se haya utilizado.

A continuación, se señala un ejemplo de identificación básica de anticuerpos irregulares con especificidad anti-S:

- 1. Identificar y registrar adecuadamente la intensidad de cruces para cada célula panel, lo cual puede orientar a la especificidad del o los anticuerpos en la muestra.
- 2. Proceda a descartar aquellas especificidades de anticuerpos para las cuales el estudio muestra un resultado negativo (descarte por reacciones negativas) con células de expresión homocigota. En la figura 1 se deben analizar las células 1, 3, 8, 10 y 11. La célula

1 permite descartar las especificidades D, C, e, M, s, k, P1, Le^b y Jk^b (tachado azul); la célula 3 permite descartar las especificidades E, c, N, Le^a, Fy^b (tachado rojo); la célula 8 no descarta especificidades adicionales; la célula 10 descarta la especificidad Jk^a (tachado verde); la célula 11 descarta la especificidad Fy^a (tachado negro). Este análisis no permitió excluir las especificidades S y K.

Figura 1: Aplicación de reglas de exclusión en la identificación básica de anticuerpos irregulares.

Cel	Rh					MNS				Kell		P	Lewis		Duffy		Kidd		Cel	Resultado			
	D	C	E	c	e	M	N	S	s	K	k	P	Le^a	Le^b	Fy^a	Fy^b	Jk^a	Jk^b		T	37C	AH	CC
1 R ₁ R ₁	+	+	0	0	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	+	+	0	+	1			0	✓
2 R ₁ R ₁	+	+	0	0	+	+	+	+	0	0	+	+	0	0	0	0	+	0	2			2+	
3 R ₂ R ₂	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	0	+	+	+	3			0	✓
4 r'r	0	+	0	+	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	0	4			2+	
5 r''r	0	0	+	+	+	0	+	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	5			2+	
6 rr	0	0	0	+	+	+	0	+	0	+	+	+	0	+	+	0	0	+	6			2+	
7 rr	0	0	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+	0	+	0	+	+	0	7			2+	
8 R ₀ r	+	0	0	+	+	0	+	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	+	8			0	✓
9 rr	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	9			2+	
10 rr	0	0	0	+	+	+	0	0	+	+	+	+	0	0	0	+	+	0	10			0	✓
11	+	+	0	0	+	+	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	0	+	11			0	✓
PA																			PA			0	

3. Proceda a comparar el patrón de reacciones (positivas y negativas) de su columna de resultados con las columnas para la especificidad S y K. El patrón de reacción en esta etapa permite descartar la especificidad K, ya que la célula 10 positiva para Kell presenta reacción negativa (Figura 2).

Figura 2: Ejemplo de tabla de trabajo con resultados para la identificación de anticuerpos anti-S.

Cel	Rh					MNS				Kell		P	Lewis		Duffy		Kidd		Cel	Resultado			
	D	C	E	c	e	M	N	S	s	K	k	P	Le^a	Le^b	Fy^a	Fy^b	Jk^a	Jk^b		T	37C	AH	CC
1 R ₁ R ₁	+	+	0	0	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	+	+	0	+	1			0	✓
2 R ₁ R ₁	+	+	0	0	+	+	+	+	0	0	+	+	0	0	0	0	+	0	2			2+	
3 R ₂ R ₂	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	0	+	+	+	3			0	✓
4 r'r	0	+	0	+	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	0	4			2+	
5 r''r	0	0	+	+	+	0	+	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	5			2+	
6 rr	0	0	0	+	+	+	0	+	0	+	+	+	0	+	+	0	0	+	6			2+	
7 rr	0	0	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+	0	+	0	+	+	0	7			2+	
8 R ₀ r	+	0	0	+	+	0	+	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	+	8			0	✓
9 rr	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	9			2+	
10 rr	0	0	0	+	+	+	0	0	+	+	+	+	0	0	0	+	+	0	10			0	✓
11	+	+	0	0	+	+	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	0	+	11			0	✓

PA																		PA			0	
----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	---	--

4. La especificidad probable del anticuerpo es anti-S, lo cual se debe demostrar por la ausencia del antígeno S en el fenotipo de los globulos rojos.
5. Cuando no es posible identificar los anticuerpos en una muestra a través del panel básico, se deben utilizar técnicas adicionales (fenotipo eritrocitario, panel enzimático, elución-adsorción) o derivar a laboratorio de Referencia para completar estudio.

A continuación, se señala un ejemplo de identificación en mezcla de anticuerpos irregulares con especificidad anti-E y anti-Fy^b:

1. Identificar y registrar adecuadamente la intensidad de cruces para cada célula panel, lo cual puede orientar a la especificidad del o los anticuerpos en la muestra.
2. Proceda a descartar aquellas especificidades de anticuerpos para las cuales el estudio muestra un resultado negativo (descarte por reacciones negativas) con células de expresión homocigota. En la figura 3 se deben analizar las células 2, 4, 6, 8, 9 y 11. La célula 2 permite descartar las especificidades D, C, e, S, k, P1, y Jk^a (tachado azul); la célula 4 permite descartar las especificidades M, Le^b, y Fy^a (tachado rojo); la célula 6 permite descartar las especificidades c, y Jk^b (tachado verde); la célula 8 descarta la especificidad N (tachado negro); la célula 9 descarta la especificidad K y Le^a (tachado naranja); la célula 11 descarta la especificidad s (tachado celeste); Este análisis no permitió excluir las especificidades E y Fy^b.

Figura 3: Aplicación de reglas de exclusión en la identificación en mezcla de anticuerpos irregulares.

Cel	Rh					MNS				Kell		P	Lewis		Duffy		Kidd		Cel	Resultado			
	D	C	E	c	e	M	N	S	s	K	k	P	Le ^a	Le ^b	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b		T	37C	AH	CC
1 R ₁ R ₁	+	+	0	0	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	+	+	0	+	1			1+	
2 R ₁ R ₁	+	+	0	0	+	+	+	+	0	0	+	+	0	0	0	0	+	0	2			0	✓
3 R ₂ R ₂	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	0	+	+	+	3			3+	
4 r'r	0	+	0	+	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	0	4			0	✓
5 r''r	0	0	+	+	+	0	+	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	5			3+	
6 rr	0	0	0	+	+	+	0	+	0	+	+	+	0	+	+	0	0	+	6			0	✓
7 rr	0	0	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+	0	+	0	+	+	0	7			2+	
8 R ₀ r	+	0	0	+	+	0	+	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	+	8			0	✓
9 rr	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	9			0	✓
10 rr	0	0	0	+	+	+	0	0	+	+	+	+	0	0	0	+	+	0	10			2+	
11	+	+	0	0	+	+	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	0	+	11			0	✓
PA																			PA			0	

3. Proceda a comparar el patrón de reacciones (positivas y negativas) de su columna de resultados con las columnas para las especificidades E y Fy^b. El patrón de reacción en intensidad de cruces nos entrega información muy relevante sobre la presencia de los anticuerpos. Por una parte, la reacción de 1+ en la célula 1 se puede relacionar con la expresión heterocigota del antígeno Fy^b. Por otra parte, las reacciones de 3+ observadas en las células 3 y 5 se pueden relacionar con la presencia concomitante de los anticuerpos anti-E y anti-Fy^b (Figura 4).

Figura 4: Ejemplo de tabla de trabajo con resultados para la identificación de anticuerpos anti-E y anti-Fy^b.

Cel	Rh					MNS				Kell		P	Lewis		Duffy		Kidd		Cel	Resultado			
	D	C	E	e	e	M	N	S	s	K	k	P	I ^a	I ^b	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b		T	37C	AH	CC
1 R ₁ R ₁	+	+	0	0	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	+	+	0	+	1			1+	
2 R ₁ R ₁	+	+	0	0	+	+	+	+	0	0	+	+	0	0	0	0	+	0	2			0	✓
3 R ₂ R ₂	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	0	+	+	+	3			3+	
4 r'r	0	+	0	+	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	0	4			0	✓
5 r''r	0	0	+	+	+	0	+	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	5			3+	
6 rr	0	0	0	+	+	+	0	+	0	+	+	+	0	+	+	0	0	+	6			0	✓
7 rr	0	0	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+	0	+	0	+	+	0	7			2+	
8 R ₀ r	+	0	0	+	+	0	+	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	+	8			0	✓
9 rr	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	9			0	✓
10 rr	0	0	0	+	+	+	0	0	+	+	+	+	0	0	0	+	+	0	10			2+	
11	+	+	0	0	+	+	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	0	+	11			0	✓
PA																			PA			0	

4. La especificidad probable de los anticuerpos en sospecha, se puede demostrar por la ausencia de los antígenos E y Fy^b en el fenotipo de los globulos rojos.
5. Cuando no es posible identificar los anticuerpos en una muestra a través del panel básico, se deben utilizar técnicas adicionales. En este caso, es de utilidad el empleo de paneles de células tratadas con enzimas (papaína), lo que permitiría confirmar la presencia de ambos anticuerpos (sobrereacción de anti-E y ausencia de reacción de anti-Fy^b).

f.- Informe de resultados

La denominación recomendada es:

IDENTIFICACIÓN DE ANTICUERPOS IRREGULARES:

Anticuerpo identificado (más probable): anti-D, anti-Fy^b (según corresponda al paciente o donante estudiado).

Anticuerpos que no se pueden excluir: anti-K, anti-Lu^a (según corresponda al paciente o donante estudiado).

g.- Aspectos a considerar en la identificación de anticuerpos

- El suero o plasma del paciente debe ser analizado por la misma técnica que se usó en la detección del anticuerpo. La inclusión de glóbulos rojos del paciente puede ser útil en el reconocimiento de anticuerpos dirigidos contra antígenos de alta frecuencia o la presencia de autoanticuerpos.
- La especificidad del an9ticuerpo sólo se debe asignar cuando es reactivo con al menos dos células panel que tienen el antígeno y no reactivo con al menos dos células panel que carecen del antígeno. Siempre que sea posible, la presencia de anti-Jk^a, -Jk^b, -S, -s, -Fy^a, y -Fy^b debe excluirse usando células que tengan expresiones homocigotas del antígeno relevante.
- Poner atención en el análisis de antígenos con efecto de dosis para no descartar especificidades con células heterocigotas. Siendo necesario por ejemplo aumentar el volumen de plasma o suero en los casos que lo permita la técnica, uso de enzimas para

tratar los glóbulos rojos o modificando condiciones de temperatura y/o pH para aquellos anticuerpos potenciados por sus características.

- Se debe utilizar un suero control anti-D débil ($\leq 0,1$ UI / ml) para asegurar la eficacia del procedimiento, incluyendo la expresión antigénica sobre células panel.
- Cuando una especificidad de anticuerpos ha sido identificada, es esencial que la presencia de otros anticuerpos clínicamente significativos no sean omitidos. Anticuerpos múltiples sólo se pueden confirmar por la elección de las células panel negativas para la especificidad reconocida, pero positivas para otros antígenos capaces de producir anticuerpos clínicamente significativos. El conocimiento del fenotipo o genotipo del paciente, según corresponda, puede ayudar en la selección de células para el proceso de identificación y exclusión.
- Cuando se ha identificado un anticuerpo, los glóbulos rojos del paciente deben ser fenotipados para establecer la ausencia del antígeno (s) correspondiente a la especificidad de los anticuerpos identificados. Se deben utilizar controles apropiados, es decir, antígeno positivo (heterocigoto) y antígeno negativo.
- Se recomienda manejar la estadística de identificaciones de anticuerpos irregulares realizadas en donantes y pacientes, proponer un indicador de muestras no concluyentes para evaluar mejoras en metodologías y procesos.

III. CONTROL DE CALIDAD

CONTROL DE CALIDAD INTERNO

Para los procesos de control de calidad en la detección e identificación de anticuerpos irregulares se deben seguir los procedimientos descritos en el documento del ISP "Recomendaciones para el Control de Calidad en Técnicas Serológicas de Inmunohematología Eritrocitaria", disponible en (<https://n9.cl/s9tdx>).

CONTROL DE CALIDAD EXTERNO

Los Centros de Sangre, Unidades de Medicina Transfusional, Bancos de Sangre y Laboratorios Clínicos del país que realizan esta determinación deben participar en algún programa de evaluación externa de la calidad, según lo señalan las normativas ministeriales, para que, en conjunto con el control de calidad interno, se asegure la calidad de la detección e identificación de anticuerpos irregulares eritrocitarios.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cohn CS, editor. *AABB Technical Manual*, 20th ed., Bethesda, Maryland, 2020.
- American Association of Blood Banks. *AABB Standards for Blood Bank and Transfusion Services*, 25th ed., Bethesda, Maryland, 2008.
- Ministerio de Salud de Chile. *Guía Técnica: Orientaciones sobre las Unidades de Medicina Transfusional*, 2013.
- Cortés Buelvas A, Muñiz-Díaz E, León de González G. *Inmunohematología básica y aplicada*, 1^o Edición. Grupo Cooperativo Iberoamericano de Medicina Transfusional, 2014.
- Instituto de Salud Pública de Chile. *Recomendaciones para el Control de Calidad en Técnicas Serológicas de Inmunohematología Eritrocitaria*, 2021.
- Ministerio de Salud de Chile. *Decreto 20, que Aprueba el Reglamento para Laboratorios Clínicos*, 2012.
- Guidelines for the blood transfusion services in the United Kingdom, 8th edition 2013.
- Harmening DM, *Modern Blood Banking and Transfusion Practices*, 6th ed., 2012.
- Aburto A, Zapata D, Retamales E, Moscoso H, Canales C, Escobar C. Erythrocyte antigens and antibodies in the Chilean population. *Immunohematology* 2021; 37: 151-156.

ANEXO 1

Frecuencia de anticuerpos irregulares en donantes y pacientes de la población chilena.

Table 2. Frequency of irregular red blood cell antibodies detected in donors and patients in the participating study establishments

Blood group system	Antibody	Donors		Patients	
		n*	%†	n	%
MNS	Anti-M	71	12.0	28	1.8
	Anti-N	1	0.2	3	0.2
	Anti-S	13	2.2	31	2.0
	Anti-s	0	0	1	0.1
P1PK	Anti-P1	7	1.2	2	0.1
Rh	Anti-D	97	16.4	394	25.8
	Anti-C	16	2.7	42	2.7
	Anti-E	108	18.3	361	23.6
	Anti-c	15	2.5	44	2.9
	Anti-e	6	1.0	20	1.3
Lutheran	Anti-Lu ^a	6	1.0	7	0.5
	Anti-Lu ^b	0	0	1	0.1
Kell	Anti-K	78	13.2	330	21.6
	Anti-k	0	0	3	0.2
	Anti-Kp ^a	1	0.2	5	0.3
	Anti-Kp ^b	0	0	1	0.1
	Anti-Js ^b	0	0	1	0.1
Lewis	Anti-Le ^a	121	20.5	125	8.2
	Anti-Le ^b	5	0.8	8	0.5
Duffy	Anti-Fy ^a	20	3.4	55	3.6
	Anti-Fy ^b	1	0.2	15	1.0
Kidd	Anti-Jk ^a	18	3.0	46	3.0
	Anti-Jk ^b	0	0	5	0.3
Diego	Anti-Di ^a	6	1.0	0	0
Xg	Anti-Xg ^a	1	0.2	0	0
Total		591		1528	

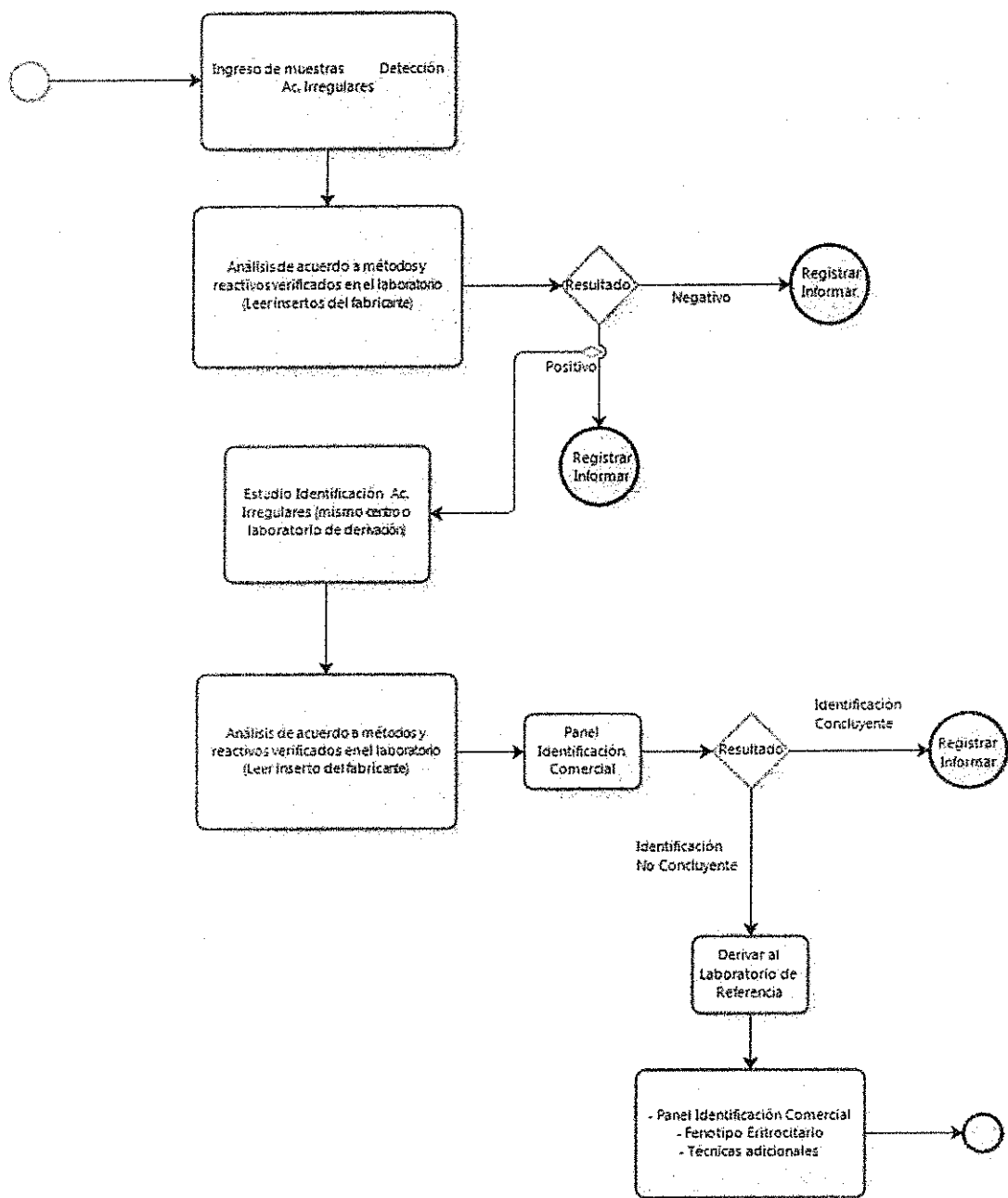
*Number of immunohematologic test results.

†Percentage of immunohematologic test results.

Fuente: Aburto A, Zapata D, Retamales E, Moscoso H, Canales C, Escobar C. Erythrocyte antigens and antibodies in the Chilean population. Immunohematology 2021; 37: 151-156.

ANEXO 2

Algoritmo para la detección e identificación de anticuerpos irregulares eritrocitarios.



ANEXO 3

Intensidades de Reacción de acuerdo a las distintas técnicas de aglutinación.

Intensidad de Reacción	Aglutinación Tubo/Microplaca	Aglutinación en columna (gel y esferas de vidrio)	Aglutinación Microplaca (fase sólida)
4+	Botón único. Fondo claro. Sin células libres.	Banda homogénea de aglutinados en la parte superior de la columna.	La adherencia es fuerte, cubriendo por completo la monocapa.
3+	Varios aglutinados de gran tamaño. Fondo claro. Sin células libres.	Banda superior de aglutinado y desplazamiento en la parte superior de la columna.	El grado de adherencia es moderado a fuerte, ligera formación de células en el centro del pocillo.

2+	Muchos aglutinados de mediano tamaño. Fondo claro. Sin células libres.	Aglutinados pequeños en la columna y a lo largo de la columna.	El grado de adherencia es moderado, botón celular irregular con agujero.
1+	Numerosos aglutinados pequeños. Fondo turbio por GR libres.	Algunos aglutinados pequeños en la columna.	El grado de adherencia es ligero a pequeño, botón celular difuso.
+/-	Aglutinación escasamente visible. Fondo turbio por GR libres.	Escasos aglutinados de pequeño tamaño en la columna.	No aplica.
0	Ausencia de aglutinación	Banda de GR al fondo de la columna, resto de la columna sin aglutinados.	No hay adherencia, botón celular central bien definido.

ANEXO 4

Elementos básicos de un registro recomendado para anotar los resultados de la detección de anticuerpos irregulares eritrocitarios.

Fecha: _____ Tecnólogo Médico responsable: _____

Identificación paciente/ donante	Reacción Panel I (intensidad de cruces)			Reacción Panel II (intensidad de cruces)			Resultado Detección de Anticuerpos	Interpretación (Características del o los Anticuerpos)	Posibles especificidades involucradas
	CI	37º C	AG H	CI	37º C	AG H			
Ejemplos de reacciones									-
Paciente XXXX	0	0	0	0	0	0	Negativo	Ausencia de anticuerpos	
Paciente XXXX	0	0	0	0	0	2+	Positivo	Alloanticuerpo	Anti-c; Anti-E; anti-K.....
Paciente XXXX	0	0	4+	0	0	4+	Positivo	Alloanticuerpo	Anti-D;
Paciente XXXX	2+	0	0	2+	0	0	Positivo	Alloanticuerpo o Autoanticuerpo frío	
Paciente n....									

Reactivo	Lote	Nº de serie	Marca	Fecha vencimiento
Panel celular				
Columna (soporte)				

AGH				
LISS				
Otro reactivo				

ANEXO 5

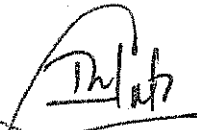
Modelo de tabla de trabajo para la identificación de anticuerpos irregulares.

Cel	Rh					MNS				Kell		P	Lewis		Duffy		Kidd		Cel	Resultado			
	D	C	E	c	e	M	N	S	s	K	k	P1	Le ^a	Le ^b	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b		TA	37C	AH G	CC
1 R ₁ R ₁	+	+	0	0	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	+	+	0	+	1				
2 R ₁ R ₁	+	+	0	0	+	+	+	+	0	0	+	+	0	0	0	0	+	0	2				
3 R ₂ R ₂	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	0	+	+	+	3				
4 r'r	0	+	0	+	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	0	4				
5 r''r	0	0	+	+	+	0	+	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	5				
6 rr	0	0	0	+	+	+	0	+	0	+	+	+	0	+	+	0	0	+	6				
7 rr	0	0	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+	0	+	0	+	+	0	7				
8 R ₀ r	+	0	0	+	+	0	+	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	+	8				
9 rr	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	9				
10 rr	0	0	0	+	+	+	0	0	+	+	+	+	0	0	0	+	+	0	10				
11 R ₁ R ₁	+	+	0	0	+	+	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	0	+	11				
PA																			PA				

2.- DÉJASE SIN EFECTO la Resolución Exenta N° 3270 de 18 de diciembre de 2014 de este Instituto.

3.- PUBLÍQUESE la presente resolución en el sitio web institucional www.ispch.cl.

Anótese, comuníquese y publíquese


DRA. ISABEL CORTÉS NODARSE
DIRECTORA (S)
INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE

15/02/2023
Resol. A1/N° 163
Ref. S/R
ID N° 890226

- Distribución:
- Dirección
 - Asesoría Jurídica.
 - Depto. Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia.
 - Comunicaciones e Imagen Institucional
 - Oficina de Partes.


Transcrito Fielmente
Ministro de Fé
Mauricio Orellana Valdés