Instituto de Salud Pública
Ministerio de Salud

Gobierno de Chile

DEPARTAMENTO LABORATORIO BIOMÉDICO NACIONAL Y DE REFERENCIA

DOCUMENTOS TÉCNICOS PARA SERVICIOS DE SANGRE

RECOMENDACIONES PARA LA FENOTIPIFICACIÓN DE ANTÍGENOS ERITROCITARIOS

La presente versión responde fielmente al contenido de la Resolución Exenta 156 del 2024 que aprueba el presente documento, del Instituto de Salud Pública de Chile.

AUTOR:

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

REVISORES INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE:

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

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

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

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

REVISORES EXTERNOS:

Comité de Expertos PEEC Inmunohematología

Dr. José Caamaño Lillo.
Universidad de La Frontera.

TM. Guillermo Herrera Calderón.
Red Salud UC Christus.

TM. Marcelo Márquez Sandoval.
Centro de Sangre y Tejidos de Valparaíso.

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

TM. Claudia Molina García.
Hospital San Juan de Dios.

Dra. María Antonieta Núñez Ahumada.
Clínica Santa María.

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

RECOMENDACIONES PARA LA FENOTIPIFICACIÓN DE ANTÍGENOS ERITROCITARIOS

RESUMEN

Este documento presenta recomendaciones para el procedimiento de fenotipado de antígenos eritrocitarios distintos a aquellos del sistema ABO y antígeno D del sistema Rh. Esta determinación forma parte de las funciones técnicas de Servicios de Sangre (Unidades de Medicina Transfusional, Bancos de Sangre y Centros de Sangre) de mayor complejidad. La redacción de estas recomendaciones surge a partir del sostenido aumento de laboratorios de Inmunohematología que han incorporado estas determinaciones en su cartera de servicios, orientadas al análisis en pacientes, embarazadas y donantes de sangre, y por ende resulta necesario entregar orientaciones metodológicas al respecto, en consenso con el Comité de Expertos del área de Inmunohematología del Instituto de Salud Pública de Chile. Este documento entrega las directrices para la realización de una adecuada caracterización de antígenos eritrocitarios, a fin de contribuir a asegurar la calidad de estos estudios inmunohematológicos en cada institución y actualizar las competencias del personal que la realiza.

OBJETIVO

El objetivo de estas recomendaciones es contribuir a disponer de metodologías para el fenotipo de antígenos eritrocitarios distintos a aquellos del sistema ABO y antígeno D en el contexto del análisis de muestras de pacientes, embarazadas y donantes de sangre que contribuya a la obtención de resultados confiables, reproducibles y trazables.

ALCANCE

Estas recomendaciones aplican a las Unidades de Medicina Transfusional, Bancos de Sangre y Centros de Sangre que realizan el proceso de fenotipificación de antígenos eritrocitarios distintos a aquellos del sistema ABO y antígeno D en donantes, pacientes y embarazadas. Las recomendaciones presentadas en este documento son aplicables a antígenos de los sistemas MNS, P1Pk, Rh, Lutheran, Kell, Lewis, Duffy, Kidd y Diego, para los cuales existan metodologías serológicas comerciales para su determinación.

INTRODUCCIÓN

El estudio de antígenos eritrocitarios en pacientes, embarazadas y donantes de sangre involucra de forma obligatoria y elemental la clasificación ABO y del Antígeno D del Sistema Rh, no obstante, existen más de 350 antígenos agrupados en 47 sistemas sanguíneos y colecciones antigénicas que no son determinados rutinariamente, sin perjuicio de que la lista vigente siga creciendo en función de nuevas investigaciones en el área. El estudio en el laboratorio de inmunohematología de antígenos de los sistemas MNS, P1Pk, Rh, Lutheran, Kell, Lewis, Duffy, Kidd y Diego será relevante para aumentar las condiciones de

seguridad transfusional y mejorar el costo-efectividad en el proceso de disponibilidad de concentrados de glóbulos rojos en el contexto transfusional y/o en el manejo y control de la enfermedad hemolítica del feto y recién nacido (EHFRN). Respecto a las frecuencias de su expresión en la población chilena, se observan distribuciones para los sistemas Rh, Kell, Duffy y Kidd muy similares a lo descrito por los organismos referentes internacionales [1].

En ese sentido, el estudio de antígenos eritrocitarios permitirá lo siguiente:

- Disponer de componentes sanguíneos para transfundir en receptores que requieran transfusiones de fenotipo específico.
- Disponer de componentes sanguíneos que carezcan de antígenos de alta frecuencia (sangre rara) o combinaciones antigénicas poco frecuentes.
- Confirmar si un anticuerpo identificado en una muestra corresponde a un aloanticuerpo o autoanticuerpo.
- Disponer de información en receptores aloinmunizados para disminuir la probabilidad de generación de nuevos anticuerpos irregulares.
- Contar con información de receptores con condiciones clínicas específicas para reducir el riesgo de generar anticuerpos irregulares.

Las técnicas serológicas permiten determinar el fenotipo eritrocitario de manera directa, por lo que se consideran metodologías de análisis primario. No obstante, existen condiciones en que el estudio de antígenos sanguíneos solo es posible mediante técnicas de biología molecular que analizan el ADN leucocitario y que entregan como resultado fenotipos probables.

Según los datos obtenidos del subprograma PEEC de Fenotipificación de Antígenos Eritrocitarios del año 2024, en 39 laboratorios participantes en la evaluación Rh y Kell, se utilizaron los métodos de aglutinación en columna (89,7%) y microplaca (10,3%).

La Guía Técnica “Orientaciones sobre las Unidades de Medicina Transfusional” según Resolución Exenta N° 1026 del Ministerio de Salud de Chile, establece que el estudio del fenotipo eritrocitario en pacientes es una función que puede ser asumida por una Unidad de Medicina Transfusional (UMT), y a su vez, que las UMT de mayor tamaño o los Centros de Sangre podrán asumir la responsabilidad del análisis de muestras inmunohematológicas cuando sea requerido por la falta de instrumental o metodologías de forma local.

DEFINICIONES Y ABREVIACIONES

a) Abreviaciones:

ACD: Ácido cítrico, citrato, dextrosa

ADN: Ácido desoxirribonucleico

AGH: Antiglobulina humana

EHFRN: Enfermedad Hemolítica del Feto y Recién Nacido

EDTA: Ácido Etilendiaminotetraacético

GR: Glóbulos Rojos

LISS: Solución de Baja Fuerza Iónica

PBS: Buffer Fosfato Salino pH 6.9 a 7.2

SAGH: Suero Antiglobulina Humana

PAD: Prueba de Antiglobulina Directa

b) Definición de conceptos

- Técnicas Serológicas: son aquellas pruebas donde son empleados sueros con anticuerpos policlonales o monoclonales de naturaleza IgM y/o IgG dirigidos a antígenos específicos, ya sea en formato líquido o incorporados en columnas de aglutinación o microplacas de fase sólida, ya sea en fase neutra o de antiglobulina humana, que permitan evidenciar la reacción antígeno-anticuerpo de forma directa cuando es analizada una suspensión de concentrado de glóbulos rojos de un paciente, donante o embarazada.
- Técnicas Moleculares: son aquellas pruebas donde son empleados partidores de secuencia específica de ADN relativas a los antígenos que se desea estudiar, que permiten evidenciar la presencia o ausencia de un genotipo asociado a la expresión fenotípica de los antígenos estudiados ("Fenotipo previsto"). El análisis se realiza a partir de ADN leucocitario extraído desde de muestras de sangre total.

DESARROLLO

a) Muestras

La muestra adecuada para realizar el fenotipado de antígenos eritrocitarios es sangre venosa anticoagulada con EDTA, aunque también se pueden utilizar muestras tomadas con citrato, heparina o a partir de bolsas de sangre con soluciones anticoagulantes-conservadoras. Independientemente del tipo de muestra empleada, estas deben ser procesadas inmediatamente o ser almacenadas a 4°C, y las pruebas deben ser realizadas en el menor tiempo posible, no excediendo las 72 horas desde su obtención.

En receptores de transfusión, se recomienda emplear un tubo de muestra adicional al requerido para las otras pruebas pretransfusionales, para así disponer de suficiente volumen de sangre para realizar las determinaciones. La determinación debe ser realizada sobre muestras obtenidas de forma previa a la realización de transfusiones de glóbulos rojos.

La solicitud que acompaña a la muestra debe indicar los antígenos que se desea estudiar y mencionar las características clínicas asociadas al paciente que pudiesen ser limitantes para estudiar los antígenos eritrocitarios (Ej.: diagnóstico, embarazos previos o en curso, transfusiones recientes, medicamentos) para así abordarlas de forma previa al análisis.

b) Reactivos

- Sueros de Fenotipado, monoclonales o policlonales humanos, de naturaleza IgM y/o IgG, en presentación líquida para metodología de aglutinación en tubo, microplaca y columnas cuando corresponda, o incorporado a la respectiva matriz de gel empleada en la metodología de aglutinación en columna.
- SAGH: tipo poliespecífico (anti IgG/anti C3d) a emplear en metodologías de aglutinación en tubo cuando el suero empleado sea de naturaleza IgG.
- Células indicadoras cubiertas con anti-IgG, a emplear en los sistemas de microplaca de fase sólida.
- Solución potenciadora recomendada por el fabricante para la técnica utilizada (Ej.: LISS, Bromelina), PBS o suero fisiológico tamponado.
- Controles positivos y negativos.

c) Técnicas

Se recomienda la utilización de metodologías automatizadas, semiautomatizadas y manuales, con métodos de aglutinación en columna, aglutinación en tubo y microplaca (fase sólida). A su vez, será recomendable el uso de reactivos de naturaleza monoclonal y de tipo IgM cuando estén disponibles, debido a que resulta menos probable la aparición de interferencias o resultados inespecíficos.

d) Ejecución

1. Identificar las muestras a analizar, centrifugándolas por 3500 RPM x 5 minutos o por el tiempo y velocidad estandarizada en el laboratorio para obtener glóbulos rojos concentrados.
2. Preparar en un tubo una suspensión de los glóbulos rojos a analizar utilizando el diluyente recomendado por el fabricante, suero fisiológico o PBS. Esta suspensión debe ser preparada de acuerdo al inserto de la técnica a utilizar: Ej.: microcolumna: 0,8-1%, microplaca: 1-3%, tubo: 3-5%. Se deben considerar tratamientos previos a las muestras solamente cuando la técnica así lo indique, por ejemplo, habitualmente en la metodología en tubo, se debe emplear una muestra de glóbulos rojos lavada, mientras que en la metodología de aglutinación en columna no es necesario.
3. Para cada antígeno analizado, se debe realizar lo siguiente:

Tubo	Suero o Plasma	Glóbulos Rojos	Utilidad
1	Suero antígeno específico	Muestra en concentración adecuada a la técnica usada	Establecer la presencia o ausencia del antígeno buscado
Control +	Suero antígeno específico	Muestra que cuenta con el antígeno, en concentración adecuada a la técnica usada	Detectar falsos negativos
Control -	Suero antígeno específico	Muestra que carece del antígeno, en concentración adecuada a la técnica usada	Detectar falsos positivos

Los controles positivos y negativos deben ejecutarse en cada corrida analítica

4. Homogenizar las mezclas dispensadas.
5. Incubar, si aplica, por el tiempo y temperatura descrito por el proveedor.
6. Para determinaciones en fase IgG mediante aglutinación en tubo: Lavar 3 veces con PBS o suero fisiológico, y adicionar 2 gotas de SAGH Poliespecífico, o realizar estas actividades según las condiciones descritas por el proveedor.
7. Centrifugar de acuerdo a la calibración de la centrífuga para lectura, o a los tiempos y revoluciones establecidas por el proveedor.
8. Observar en busca de aglutinación o adherencia de células en técnica de microplaca, de acuerdo a la técnica de lectura automatizada o manual que recomiende el fabricante. Cuando la lectura sea manual, debe ser empleada fuente de luz para la correcta discriminación de reacciones más débiles.
9. Registrar los resultados obtenidos en intensidad de cruces, de acuerdo a la tabla de reacción del Anexo 1.
10. Para determinaciones en fase IgG mediante aglutinación en tubo: Si se observan resultados negativos, agregar Células Control Coombs y repetir desde el punto 7. Si el resultado es negativo se debe repetir el procedimiento, ya que los resultados corresponden a un probable falso negativo por neutralización del suero de antiglobulina humana.

11. Para todas las determinaciones en fase IgG: Los resultados positivos se deben controlar con una PAD. Para que el resultado del fenotipo obtenido sea válido, necesariamente la PAD debe ser negativa. Si existe una PAD positiva únicamente por fracción IgG y la muestra no corresponde a una persona transfundida en los últimos 3 meses, se podrá realizar tratamiento de elución sobre la misma y luego repetir el análisis, comprobando previamente que la PAD se ha vuelto negativa a partir de este proceso.

e) Limitaciones de la metodología

Existen situaciones donde este tipo de pruebas podrían no entregar resultados confiables. Por ejemplo, no es confiable realizar este análisis cuando existan antecedentes de transfusión de glóbulos rojos en los últimos 3 meses, dada la posible presencia de campo mixto producido por eritrocitos autólogos y alogénicos, ni tampoco cuando la muestra sea positiva para la PAD y se empleen reactivos de tipo IgG, a menos que la muestra sea positiva únicamente para la fracción IgG y ésta sea sometida previamente a tratamiento de elución de anticuerpos, por ejemplo, con Difosfato de Cloroquina.

f) Interpretación

La interpretación de los fenotipos eritrocitarios debe realizarse de acuerdo a los resultados de la siguiente tabla:

Reacción de la muestra con el suero clasificador	Interpretación
0	Antígeno Ausente
+	Antígeno Presente
DP	No interpretable: Antecedentes transfusionales, TMO o quimerismo

0 = No hay reacción de aglutinación o adherencia

+ = Intensidad de aglutinación o adherencia de cualquier tipo (4+, 3+, 2+, 1+, +/-)

DP = Doble población.

No obstante, es muy importante revisar la interpretación indicada por el proveedor de la técnica, quien puede entregar información de interés en relación a la intensidad de aglutinación en cruces o presencia de dobles poblaciones para la toma de decisiones.

g) Informe de resultados

Para el informe de resultados de antígenos que sean fenotipados en pacientes, receptores de transfusión y embarazadas, deberán indicarse los antígenos estudiados y su presencia y/o ausencia. Considerando ésto, la denominación recomendada en este caso es:

FENOTIPO DE ANTÍGENOS ERITROCITARIOS:

Antígeno: Positivo (+) / Negativo (-).

Ej.: C+, c-, E+, e-, K+, Fy^a+, Fy^b-, Jk^a+, Jk^b+.

En el caso de los fenotipos realizados a donantes de sangre, estos no generarán informe de resultados, pero si implicarán la incorporación de información adicional en registros de análisis (Ej.: Sistemas de información electrónica de Medicina Transfusional) y en la etiqueta de los componentes sanguíneos preparados a partir de donaciones fenotipadas.

La incorporación del fenotipo eritrocitario a la etiqueta del componente sanguíneo debe estar asociado a procesos de laboratorio que aseguren trazabilidad de los resultados. Por tanto, estos podrán incorporarse cuando los resultados provengan de procesos de análisis completamente automatizados y realizados a partir la muestra primaria obtenida al momento de la donación, para la cual se debe disponer de su trazabilidad completa, o en su defecto cuando se cuenten con dos análisis adecuadamente correlacionados, provenientes de muestras tomadas en donaciones distintas, para un antígeno en particular.

Es recomendado incorporar la información completa relativa al fenotipo para los antígenos C, c, E, e y K, además de informar aquellos antígenos positivos adicionales estudiados, no así los resultados negativos (antígenos ausentes).

h) Aspectos a considerar en la Fenotipificación de Antígenos Eritrocitarios

i. Situaciones donde es recomendado analizar el fenotipo en pacientes.

- Cuando es identificado un anticuerpo irregular: La identificación de anticuerpos irregulares considera como un paso de corroboración el estudio del antígeno involucrado, dado que su análisis permite establecer si lo identificado corresponde a un aloanticuerpo o autoanticuerpo. Cuando sea aplicable, es requerido que al menos sean estudiados los antígenos antitéticos para el anticuerpo identificado (Ej.: si se identifica un Anti-Fy^a se estudian los antígenos Fy^a y Fy^b). Adicionalmente, dado el antecedente de aloinmunización (receptor respondedor) es recomendable estudiar de manera extendida otros antígenos disponibles en el laboratorio cuando se estime que es posible que el receptor vaya a requerir nuevas transfusiones.

- Cuando se está frente a receptores que requerirán transfusiones de forma permanente o por largos períodos como parte del abordaje de una patología: En estos casos, será relevante estudiar de manera extendida el fenotipo de antígenos eritrocitarios dada la exposición continua a estímulos aloinmunizantes, y a su vez emplear concentrados de glóbulos rojos para transfusión que tengan una expresión de antígenos eritrocitarios lo más similar posible al fenotipo del receptor. En esta categoría se encontrarán también incorporados los receptores en neonatología, patologías hematológicas tales como las hemoglobinopatías estructurales: drepanocitosis y talasemias, anemia aplásica, neoplasias mielodisplásicas, anemias crónicas congénitas y adquiridas y la anemia hemolítica autoinmune (AHAI), excluyendo específicamente a la anemia de células falciformes (drepanocitosis) para la cual debe ser considerada el genotipado.
  Para seleccionar concentrados de glóbulos rojos en estos receptores, se estima necesario tener información suficiente para antígenos del sistema Rh (D, C, E, c, e), Kell, Kidd, Duffy y Ss y transfundir empleando concentrados de glóbulos rojos que concuerden a su expresión antigénica en medida de que esto sea posible, más cuando ya exista evidencia de sensibilización. Cuando no se disponga de concentrados de glóbulos rojos fenotipados para todos estos antígenos se establecerá, si es posible, el siguiente orden de prioridad: D, K, Jk^a/E, c, e, Fya, C, S, s, Fy^b, Jk^b [4].

- Cuando se reporta panaglutinación en la identificación de anticuerpos irregulares: El fenotipado extendido en estos casos permitirá detectar la ausencia de antígenos de alta frecuencia que puedan asociarse presuntivamente como motivo de la panaglutinación (Ej.: Ausencia de antígenos k, Kp^b, Lu^b) cuando esta se produce a partir de un aloanticuerpo. En el caso de que la panaglutinación sea gatillada

por un autoanticuerpo que no interfiera la realización del fenotipado, permitirá suministrar unidades de concentrados de glóbulos rojos con características antigénicas lo más similares posibles reduciendo el riesgo de una aloinmunización que quede enmascarada por el autoanticuerpo.

- De forma previa a la recepción de una terapia con anticuerpos monoclonales: el tratamiento del mieloma múltiple emplea una nueva generación de anticuerpos monoclonales como anti-CD38 y anti-CD47 cuyo blanco de acción corresponde a esos antígenos expresados por las células malignas, pero que también se encuentran en los eritrocitos normales. De estos anticuerpos, el más ampliamente utilizado es el anti-CD38, Daratumumab o Isatuximab, el cual interfiere con el fenotipado de antígenos eritrocitarios que emplee fase de Coombs resultando en aglutinaciones falsas positivas. La recomendación es que todo paciente que vaya a recibir terapia con daratumumab sea fenotipado previamente para antígenos C, c, E, e y K para disponer de este antecedente en caso de ser requerido soporte transfusional sin tener que emplear tratamientos químicos en su fenotipado o que el mismo deba ser genotipado [4], [8].
- Cuando un receptor de transfusión corresponde a un origen étnico distinto al predominante en población donante: en orígenes étnicos distintos a los predominantes en los donantes disponibles, es posible encontrar patrones fenotípicos con importantes diferencias que suponen un riesgo para una sensibilización con uno o más aloanticuerpos. Siempre que sea posible, resultará relevante fenotiparlos y emplear componentes sanguíneos lo más homólogos a ese patrón. Inicialmente, se recomienda transfundir Rh y KeII compatible, pero si resulta posible se deben respetar los fenotipos Kidd y Ss.
- En mujeres con edad menor a 50 años: en estos casos, conocer el fenotipo de antígenos eritrocitarios permitirá reducir el riesgo de aloinmunización a anticuerpos que sean causales de la EHFRN. Para disminuir efectivamente este riesgo es recomendado suministrar componentes compatibles al menos para los antígenos del sistema Rh (D, C, c, E, e) y antígeno KeII.

ii. Recomendaciones para escoger donantes para fenotipado de antígenos eritrocitarios.

La fenotipificación de donantes de sangre debe abordarse mediante un enfoque que permita disponer de una proporción permanente del stock de concentrados de glóbulos rojos con fenotipo extendido estudiado para así atender las necesidades de transfusión de receptores que los requieran de forma oportuna, entendiendo que esta actividad es adicional a las obligatorias desarrolladas en los laboratorios de Inmunohematología de las áreas de producción de Bancos y Centros de Sangre, pero que su incorporación a la rutina evitará que se opere bajo presión, con los consecuentes riesgos de errores de proceso y retraso en otras labores, cuando se presenten requerimientos de unidades fenotipadas.

A modo general, se recomienda, si la metodología implementada lo admite, incorporar la fenotipificación del antígeno K asociado a la Clasificación ABO-RhD para la totalidad de donantes de sangre. Para el resto de los antígenos a los cuales hace referencia este documento, se recomienda considerar las siguientes directrices en donantes:

- Escoger donantes de sangre que estén fidelizados, de preferencia altruistas.
- Privilegiar a aquellos donantes que no se encuentren cerca de la edad máxima para realizar donación.
- Toda fenotipificación incorporada a la etiqueta de un componente sanguíneo y registrada de forma permanente en sistemas informáticos, distinta a ABO-RhD, debe ser realizada mediante metodologías de análisis completamente automatizadas y realizada a partir de la muestra primaria obtenida al momento de la donación, o en su defecto debe ser realizada por duplicado y mantener resultados congruentes entre sí, empleando muestras de distintas donaciones.
- En caso de que sea posible, se deben fenotipar todas las donaciones para antígenos C, c, E, e y K que cumplan las primeras dos condiciones descritas, pero en caso de que esto no sea posible deben privilegiarse aquellas que sean O RhD Positivo, O RhD Negativo y A RhD Positivo.

- De aquellas donaciones en las cuales se haya observado fenotipo R1R1, R2R2 o rr, será recomendado fenotipar otros antígenos eritrocitarios, tales como Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b, S, s y otros que el laboratorio pueda analizar.
- De aquellas donaciones en las cuales se haya observado presencia del antígeno K, será recomendado fenotipar para antígeno k.

Adicionalmente, deben ser considerado como de interés para el fenotipado todos aquellos casos donde exista sospecha fundada de que el donante tenga características compatibles con sangre de fenotipo infrecuente, o con combinaciones antigénicas de baja frecuencia, pudiendo omitirse los puntos antes descritos si es este el caso.

iii. Situaciones donde es recomendado analizar el genotipo en vez del fenotipo de antígenos eritrocitarios

La genotipificación de antígenos eritrocitarios es considerada una metodología de segunda línea para caracterizar antígenos eritrocitarios, mediante la cual se obtiene un fenotipo previsto a través del estudio del material genético de origen leucocitario de una muestra. Esta técnica se encuentra únicamente disponible en laboratorios de inmunohematología de mayor nivel de especialización.

Su uso es recomendado en sustitución de las técnicas serológicas de fenotipado en las siguientes ocasiones:

- Existencia de transfusiones de concentrado de glóbulos rojos en los 3 meses previos a la toma de muestra.
- La muestra analizada contiene autoanticuerpos que interfieren en pruebas serológicas, reflejados en una Prueba de Antiglobulina Directa Positiva.
- Se requiere obtener información del fenotipo eritrocitario en un paciente que se encuentra bajo tratamiento con anticuerpos monoclonales.
- Se sospecha de la presencia de variantes RhCE.
- Estudio de muestras con múltiples anticuerpos clínicamente significativos.
- La muestra proviene de un receptor de trasplante de progenitores hematopoyéticos realizado recientemente.
- Existe un diagnóstico de anemia de células falciformes.
- Cuando se desea estudiar un antígeno eritrocitario para el cual no se dispone de sueros comerciales.
- Cuando se desea confirmar un hallazgo poco habitual respecto al fenotipo de una muestra, como, por ejemplo, cuando se presenta un fenotipo nulo para antígenos del sistema Duffy.

No obstante, los estudios mediante biología molecular en Inmunohematología también tendrán utilidad en el Estudio de Variantes Débiles y Parciales del Antígeno D, el estudio de Subgrupos ABO y en el análisis inmunohematológico de ADN Fetal en plasma materno.

Los resultados del análisis mediante biología molecular no están exentos de limitaciones, dado que el resultado obtenido corresponde a fenotipos previstos. En ese sentido, en circunstancias donde se sospeche de la presencia de fenotipos nulos o de expresión muy débil para sistemas sanguíneos Rh, Kell, Duffy, Kidd y Lewis debe considerarse la posibilidad de que de igual manera se observe expresión génica de los mismos.

i) Control de Calidad Interno

Para los procesos de control de calidad en el fenotipado de antígenos eritrocitarios 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).

Adicionalmente, los reactivos empleados para estos fines deben contar con instrucciones de uso, de preferencia en español, deben indicar la naturaleza del reactivos y clones incorporados, además de sus limitaciones de uso. Será recomendado el uso de reactivos que cuenten con aprobación de la FDA o CE.

j) 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 del fenotipo de antígenos eritrocitarios y el resto de las pruebas pretransfusionales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1) 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.

2) American Association of Blood Banks. AABB Standards for Blood Bank and Transfusion Services, 25th ed., Bethesda, Maryland, 2008.

3) Cohn CS, editor. AABB Technical Manual, 20th ed., Bethesda, Maryland, 2020.

4) Cortés Buelvas A, Muñiz-Díaz E, León de González G. Inmunohematología básica y aplicada, 1° Edición. Grupo Cooperativo Iberoamericano de Medicina Transfusional, 2014.

5) Guidelines for the blood transfusion services in the United Kingdom, capítulos 12, 13 y 15, 2023.

6) Instituto de Salud Pública de Chile. Recomendaciones para el Control de Calidad en Técnicas Serológicas de Inmunohematología Eritrocitaria, 2021.

7) Gonçalves. M, Colli. C, Conci. L, Sell. A, Laguila. J. Methods for blood group antigens detection: cost-effectiveness analysis of phenotyping and genotyping. Hematology, Transfusion and Cell Therapy. 41(1):44–49, 2019.

8) Nedumcheril M, DeSimone R, Racine-Brzostek S, Kyong Chaekal O, Vasovic L. Overcoming Drug Interference in Transfusion Testing: A Spotlight on Daratumumab. Journal of Blood Medicine 12, 327-336, 2021.

9) Milkins. C, Berryman. J, Cantwell. C, Elliott. C, Haggas. R, Jones. J, Rowley. M, Williams. M, Win. N. Guidelines for pre-transfusion compatibility procedures in blood transfusion laboratories. Transfusion Medicine, 23, 3–35, 2012.

10) White. J, Qureshi. H, Massey. E, Needs. M, Byrne. G, Daniels. G, Allard. S, and British Committee for Standards in Haematology. Guideline for blood grouping and red cell antibody testing in pregnancy. Transfusion Medicine, 26, 246–263, 2016.

11) Guia do Cadastro Nacional de Sangue Rara, Ministério da Saúde – Brasil, 2022.

12) Resolución Exenta N° 1026 del Ministerio de Salud de Chile, que aprueba la Guía Técnica: Orientaciones sobre las Unidades de Medicina Transfusional, 2013.

ANEXO 1

Intensidades de Reacción de acuerdo a los distintos métodos utilizados.

Intensidad de Reacción	Aglutinación en Tubo/Microplaca	Aglutinación en Columna (gel y esferas de vidrio)	Adherencia 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 2

Distribución de los fenotipos eritrocitarios de los sistemas Rh, Kell, Duffy, Kidd, según documento "Informe de Resultados del Estudio de Indicadores Inmunohematológicos en Población Chilena, Año 2015".

Sistema	Fenotipo Eritrocitario	n	%	ISBT/AABB
Rh	DCce	592	19,4	**34,9**
	DCe	666	21,8	**18,5**
	DCcEe	580	19,0	**13,3**
	Dce	41	1,3	**2,1**
	DcEe	279	9,1	**11,8**
	DcE	146	4,8	**2,3**
	DCEe	33	1,1	**0,2**
	DCcE	6	0,2	**0,1**
	DCE	4	0,1	**0,01**
	ce	633	20,7	**15,1**
	Cce	45	1,5	**0,8**
	cEe	27	0,9	**0,9**
	CcEe	3	0,1	**0,5**
Total Rh		**3.055**	**100,0**	
Kell	K-k+	1.009	96,7	**91**
	K+k+	34	3,3	**8,8**
Total Kell		**1.043**	**100,0**	
Duffy	Fy(a+b-)	99	32,0	**20**
	Fy(a+b+)	142	46,0	**48**
	Fy(a-b+)	68	22,0	**32**
Total Duffy		**309**	**100,0**	
Kidd	Jk(a+b-)	61	16,9	**26**
	Jk(a+b+)	182	50,4	**50**
	Jk(a-b+)	118	32,7	**24**
Total Kidd		**361**	**100,0**	
TOTAL		**4.768**	---	---