



Universidad de Buenos Aires



Facultad de Medicina

Facultad de Medicina U.B.A
Tecnicatura Universitaria en Hemoterapia e Inmunohematología

INMUNOHEMATOLOGIA

Fundamentos:

La asignatura Inmunohematología es la que define para la Tecnicatura Universitaria en Hemoterapia e Inmunohematología, su esencia y especificidad pues buena parte de las prácticas profesionales del futuro egresado tienen su base en la aplicación de saberes adquiridos en esta materia. Inmunohematología integra contenidos extraídos de inmunología, fisiología de la sangre, hematología, genética, estadística y antropología, orientándolos al estudio de los grupos sanguíneos eritrocitarios humanos y lo concerniente a su nomenclatura, herencia, la investigación de anticuerpos anti-eritrocitarios y la implementación de las pruebas diagnósticas correspondientes.

El dictado de esta materia procura también que el futuro profesional adquiera un manejo sólido en el uso de reactivos inmunohematológicos y la ejecución de sus respectivos controles de calidad y de procedimientos apropiados que aseguren una buena praxis. La asignatura enfatiza sobre la adquisición de contenidos por parte del alumno que lo capaciten para llevar a cabo las pruebas pretransfusionales y el acto transfusional en sí mismo bajo el apego a estrictas normas nacionales e internacionales existentes, orientando su formación a reconocer alertas tempranas y por lo tanto evitar o minimizar el daño potencial al paciente, inherente a todo acto transfusional. Así también se vuelve ineludible la prosecución en el futuro profesional de un pensamiento crítico y ético que le permita tanto resolver autónomamente y con pericia aquellas situaciones no habituales emergentes dentro de su campo, como le otorgue a la vez capacidad de reconocimiento de los límites e intersecciones propios del trabajo en equipo cuando se enfrente a un problema ajeno a las incumbencias de su ejercicio profesional.

Objetivos generales:

Al terminar la cursada de Inmunohematología el alumno deberá haber alcanzado los siguientes objetivos generales:

- **Integrar** los conocimientos aprendidos -reconociendo al ser humano como una unidad biopsicosocial y por lo tanto objetivo primario de toda ciencia de la salud-, para poder aplicarlos en los diferentes contextos clínicos y de laboratorio de un Servicio de Medicina Transfusional, en la comunicación interdisciplinaria y en el contacto con el donante y el paciente.
- **Adquirir** terminología adecuada para ajustarla al entorno y hacer eficiente esa comunicación.

- **Describir** las bases inmunológicas de las reacciones antígeno-anticuerpo, sus métodos de estudio y variables que las afectan.
- **Explicar** correctamente en qué consisten los grupos sanguíneos humanos, las bases genéticas, químicas y serológicas que los relacionan, conocer su nomenclatura, rol biológico y asociación con enfermedades.
- **Poseer conceptos** generales de antígenos basados en carbohidratos y particulares sobre sistema ABO, la naturaleza e implicancia clínico-transfusional de sus anticuerpos, como así también las técnicas para su correcta clasificación.
- **Conocer** los aspectos relevantes del complejo sistema Rh, haciendo énfasis en el estudio de las proteínas productos de los genes RHD y RHCE, la determinación de sus fenotipos y la descripción de los anticuerpos del sistema que tienen importancia clínica u obstétrica/feto-neonatal.
- **Ser capaz de explicar** la importancia del suero antiglobulina o suero de Coombs, utilizado en inmunohematología hace casi setenta años, su origen, elaboración y componentes, distinguiendo aquellos policlonales de monoclonales y poliespecíficos de monoespecíficos, conocer las diferentes aplicaciones de las pruebas de Coombs directas e indirectas.
- **Ser capaz de ejecutar** las distintas pruebas cruzadas y entre ellas la detección de anticuerpos irregulares, conocer la serie de reactivos utilizados en las mismas, los métodos convencionales y no convencionales para llevarlas a cabo y aquellos medios alternativos que puedan complementarlas, como el uso de potenciadores.
- **Aprender** a implementar controles y reconocer las diferentes causas de error en la ejecución de las técnicas inmunohematológicas.
- **Entender** los procedimientos pretransfusionales como una cadena de decisiones y ejecución de pruebas que deben llevarse a cabo con sentido de trabajo en equipo, donde cada eslabón es importante y cumple su función con la finalidad última de transfundir el hemocomponente correcto, en condiciones adecuadas, al paciente correcto, evitando causar daño en el receptor.
- **Conocer** la estructura y función de las glicoproteínas de membrana que conforman los sistemas de grupos sanguíneos Kell, Duffy, Kidd y MNS y Diego, los genes que las codifican, fenotipos, anticuerpos relevantes del sistema y sus características e incidencia.
- **Utilizar** apropiadamente los reactivos hemotipificadores y comprender la utilidad del resguardo y conservación adecuada de muestras globulares que carecen de antígenos de alta incidencia poblacional o aquellos sueros con anticuerpos que no tienen sustitutos, a los fines diagnósticos.
- **Adquirir** las herramientas metodológicas necesarias para llevar a cabo la identificación de anticuerpos con un margen de error aceptable, capacitándose para poder seleccionar el hemocomponente más adecuado para transfusión en pacientes sensibilizados.
- **Poder efectuar** la cuantificación de anticuerpos mediante titulación, su registro y su interpretación.
- **Comprender la importancia** de colaborar con el médico especialista en Hemoterapia e Inmunohematología en la implementación de protocolos de estudios inmunohematológicos adaptados a la complejidad diversa de cada Servicio de Medicina Transfusional.

Objetivos específicos:

Unidad 1: Inmunoematología aplicada a la Medicina Transfusional

- Enfatizar sobre la descripción de la respuesta inmune humoral; abordando la respuesta inmune celular sólo como marco para comprender el mecanismo desencadenado en los individuos expuestos a antígenos eritrocitarios extraños.
- Diferenciar a lo inmunidad de autoinmunidad, distinguiendo las particularidades propias e inherentes a cada una de estas entidades para seleccionar los algoritmos de prueba que correspondan
- Crear un nivel de alerta temprana sobre los distintos procesos inesperados de destrucción de eritrocitos o hemólisis, lo que permitirá al futuro técnico orientar la pesquisa in Vitro, cuando la hemólisis fuera de causa inmunológica.
- Conocer y controlar rigurosamente todas las variables físicas, químicas y biológicas de aquellas reacciones antígeno-anticuerpo que se promueven y/o analizan en el laboratorio de inmunoematología.
- Conocer detalladamente estructura, función, cantidad y mecanismo de acción de las inmunoglobulinas del plasma y fluidos del organismo, tanto en adultos como en recién nacidos.
- Limitar la subjetividad propia de cada operador mediante el apego a una graduación y registro de resultados de uso internacionalmente aceptado en inmunoematología.
- Optimizar la implementación de cada prueba serológica de forma que alcance su máximo de sensibilidad y promueva la obtención de especificidad.
- Reconocer reacciones falsas que no involucran existencia de anticuerpos, resolver reacciones engañosas que simulan o enmascaran especificidades y utilizar la inhibición de una reacción esperada para demostrar hipótesis de presencia de anticuerpos
- Formar el hábito de la lectura sistemática de las instrucciones de uso de cada reactivo comercial y/o de la fundamentación documentada para el uso de reactivos no comerciales. En ambos casos se persigue la formación de criterio científico-técnico para la elección pertinente de controles a ejecutar en cada caso particular.

Unidad 2: Los grupos sanguíneos humanos. Rol biológico. Nomenclatura de la Sociedad Internacional de Transfusión Sanguínea (ISBT).

- Ser capaz de definir qué son los grupos sanguíneos humanos en general: eritrocitarios, leucocitarios, plaquetarios y plasmáticos y en particular aquellos que se hallan en la membrana eritrocitaria.
- Conocer las relaciones serológicas, genéticas y bioquímicas que son utilizadas para reunirlos en sistemas, colecciones y series de muy alta o muy baja incidencia poblacional, las nomenclaturas declaradas obsoletas y las similitudes significativas que se esperan en diferentes razas o etnias.
- Reconocer la función que cumplen sobre la membrana, formando canales proteicos que la atraviesan u otro rol biológico demostrado.
- Brindar al alumno las herramientas para mantener actualizada, en su práctica profesional futura, la clasificación y nomenclatura en constante reacomodamiento que da a conocer el Grupo de Trabajo referente en el tema desde la Sociedad Internacional de Transfusión Sanguínea (ISBT).

- Realzar la importancia del estudio de los grupos sanguíneos predominantemente en el marco de su significancia clínica en transfusión de hemocomponentes, trasplante de tejidos, órganos sólidos y seguimiento inmunohematológico de la paciente obstétrica y del neonato y secundariamente en estudios interdisciplinarios.
- Utilizar los conocimientos sobre grupos sanguíneos adquiridos para interpretar la numerosa bibliografía existente, tablas, trabajos científicos publicados, comunicaciones de casos y toda otra fuente científico-técnica que documente datos de relevancia clínica aplicables a la demostración de hallazgos en el laboratorio de inmunohematología durante su ejercicio profesional.
- Procurar que pueda explicar los cambios producidos en el conocimiento de los grupos sanguíneos humanos a partir del descubrimiento y utilización masiva de anticuerpos monoclonales, comparando sus ventajas y desventajas respecto de los anticuerpos policlonales.

Unidad 3: Genética de los grupos sanguíneos. Grupos sanguíneos ABO, H, Lewis y antígenos relacionados estructuralmente. Grupo sanguíneo P1PK y P

- Explicar en detalle la estructura de membrana para el sistema ABO y H, su genética y herencia y los distintos fenotipos: comunes, poco frecuentes y nulos, su correspondiente distribución poblacional, conociendo las relaciones entre ambos sistemas; enfatizando sobre la relevancia clínica del sistema ABO.
- Conocer la existencia de anticuerpos naturales del sistema ABO y su excepcional importancia clínico-transfusional, debiendo profundizar en las características serológicas de IgM e IgG
- Ser capaz de implementar, mediante diferentes métodos, las pruebas directa e inversa para el ABO y utilizar con pericia los reactivos empleados en las mismas, pudiendo reconocer en el laboratorio la presencia de hemolisinas, si las hubiera; detectar y resolver eventuales discrepancias ABO, utilizar lectinas y realizar pruebas para definir estado secretor
- Conocer las particularidades estructurales y genéticas de los antígenos del sistema Lewis y las de sus anticuerpos en función de su importancia clínica y frecuencia de aparición, especialmente en la mujer embarazada.
- Describir las características de los sistemas de grupos sanguíneo basados en carbohidratos, como I, P1PK y P entre otros, sus fenotipos, presencia de estos antígenos en secreciones, anticuerpos e importancia clínica relativa de estos últimos.
- Conocer los diferentes métodos de tipificación para grupos sanguíneos y el abordaje correcto de las indicaciones de uso de reactivos comerciales, priorizando el sistema ABO
- Familiarizarse con conceptos de automatización, informatización de resultados y nuevas tecnologías.

Unidad 4: El Sistema Rh

- Ser capaz de ahondar sobre información relevante del vasto sistema Rh: genes RHD y RHCE, proteínas, antígenos, fenotipos y genotipos, manejando fluidamente tanto la nomenclatura de Fisher como la de Wiener
- Conocer la estructura proteica del antígeno D normal, débil y parcial y tener nociones sobre sus mutaciones, deleciones y entrecruzamientos

- Seleccionar apropiadamente el reactivo anti-D para cada circunstancia, interiorizándose sobre la existencia de anticuerpos monoclonales para este fin, sus fuentes de elaboración, líneas celulares que conforman los diferentes reactivos, uso, ventajas y desventajas de cada uno y consideraciones clínicas.
- Disponer de nociones sobre la genotipificación D y sus aplicaciones, como así también sobre nuevas tecnologías o ensayos de campo en curso, dirigidos al estudio de este sistema Rh.
- Describir otros antígenos Rh de relevancia clínica y la función estructural de las proteínas Rh
- Comprender la importancia clínica y obstétrica de los anticuerpos Rh, caracterizar las diferentes especificidades, sus concomitancias e interrelaciones dentro y fuera del sistema.
- Dominar los conceptos básicos que explican la necesidad de la profilaxis anti-D
- Ejecutar las técnicas adecuadas para la tipificación Rh, con sus respectivos controles y teorizar sobre resolución de eventuales discrepancias.

Unidad 5: El test de la antiglobulina humana o prueba de Coombs.

- Definir qué es un suero antiglobulínico, cuál es su origen, composición, función, sensibilidad y forma de uso.
- Conocer la conformación de los reactivos poliespecíficos, oligoespecíficos, mono-específicos y la reactividad anti-IgG, -IgM, -IgA y hacia los componentes del complemento; distinguiendo aquellos de origen policlonal de los de origen monoclonal.
- Ejecutar las pruebas de Coombs directa e indirecta, definirlas, explicar sus diferencias, aplicaciones e interpretar sus resultados, como así también poder detallar las fuentes de error durante su implementación y fundamentar los resultados falsos negativos y positivos posibles.

Unidad 6: Detección de Anticuerpos Irregulares. Uso de diferentes métodos y medios de reacción.

- Definir el concepto de pruebas cruzadas en general y detección de anticuerpos irregulares en particular, conociendo la importancia de la detección temprana estos últimos en el manejo transfusional y el seguimiento inmunohematológico básico de la paciente obstétrica.
- Diferenciar el comportamiento serológico de las inmunoglobulinas involucradas en la respuesta inmune primaria y secundaria, su persistencia en el tiempo en relación con la conservación de muestras sanguíneas utilizadas para pruebas cruzadas. Discriminar la incidencia de aparición de anticuerpos irregulares según diferentes grupos de pacientes.
- Conocer reactivos y métodos utilizados para la detección de anticuerpos, la conformación de paneles celulares, características distintivas de cada presentación, umbral de resolución y uso apropiado. Describir control autólogo, la instancia y forma de implementación.
- Conocer y controlar las variables que intervienen en la detección de anticuerpos para utilizarlas como herramientas útiles en la investigación: análisis de las fases de reacción, efecto de dosis, antígenos de expresión disminuida en glóbulos rojos fetales, entre otras variables.
- Ejecutar el método convencional en tubo: salino/antiglobulina y conocer otros métodos alternativos y pruebas adicionales como: reducción de IgM con compuestos

sulfhidrilos, utilización de diferentes potenciadores, polietilenglicol, enzimas proteolíticas, baja fuerza iónica, policationes, entre otros, dominando el uso correcto de la albúmina bovina y pudiendo describir sus aplicaciones.

- Adquirir criterio científico-técnico para validar los métodos a utilizar en los estudios inmunohematológicos, implementando los controles adecuados pertinentes en cada ocasión y persiguiendo resultados reproducibles.
- Distinguir las distintas pruebas cruzadas según el objetivo de la investigación, sus aplicaciones y alternativas al método en tubo: aglutinación en columnas, fase sólida, sistemas automatizados, siendo capaz de mencionar tecnologías en fase de experimentación para este uso específico.

Unidad 7: Procedimientos pretransfusionales

- Describir las etapas iniciales del procedimiento pretransfusional: solicitud de transfusión, identificación fehaciente del receptor, rotulado y observación de muestras de sangre y anamnesis orientada a antecedentes de embarazo, transfusión previa o ingesta de medicamentos.
- Conocer las pruebas pretransfusionales de rutina que se llevan a cabo tanto en el receptor como en el donante y los mecanismos destinados a promover la seguridad transfusional.
- Ser capaz de seleccionar el hemocomponente para transfusión respetando la compatibilidad ABO, tipificación Rh y –cuando correspondiera- el fenotipo extendido en donantes y receptores para otros antígenos de grupo sanguíneo de importancia clínica, según características del paciente y normas reconocidas por la autoridad competente.
- Conocer las particularidades propias de pacientes politransfundidos, en período peritrasplante de médula ósea u órganos sólidos, sensibilizados u otros.
- Tener nociones sobre el uso de la genotipificación en pacientes que no pueden ser clasificados por fenotipificación.
- Pormenorizar sobre pruebas cruzadas pretransfusionales mayores y menores, atento al concepto de incompatibilidad mayor y menor y también al de incidente y accidente transfusional
- Describir la prueba de compatibilidad salina con método en tubo y en medio antiglobulínico y conocer otros métodos y medios de reacción alternativos. El alumno debe poder detallar también las ventajas y desventajas de eventuales pruebas computarizadas y abreviadas
- Conocer e interpretar las causas posibles de pruebas pretransfusionales positivas, distinguiendo entre el concepto de sangre compatible versus la sangre más adecuada para cada caso particular.
- Enunciar los controles a implementar inmediatamente antes de la transfusión y que están orientados a evitar daño al paciente, detectando y corrigiendo precozmente eventuales errores de procedimiento.
- Detallar la conducta a tomar en situaciones clínicas especiales como por ejemplo: pacientes menores de 4 meses de edad, administración de sangre en situaciones de extrema emergencia, transfusión masiva.

Unidad 8: Sistemas Kell, Duffy, Kidd, MNS y Diego.

- Describir las glicoproteínas del sistema MNS, los genes que las codifican, fenotipos frecuentes y otros menos frecuentes pero clínicamente importantes, los anticuerpos del sistema: características e incidencia
- Tener nociones sobre la estructura de la glicoproteína Kell, el gen KEL, frecuencia fenotípica, antígenos relevantes del sistema y sus características, importancia clínica e incidencia de aparición de sus anticuerpos; también enumerar fenotipos nulos y sus aspectos funcionales.
- Conocer la glicoproteína Duffy, estructura, su rol como receptor para citoquinas y asociación con la malaria, la distribución especial de fenotipos y genotipos Duffy en poblaciones seleccionadas, gen codificante y relevancia clínica de los anticuerpos del sistema, sus características e incidencia.
- Conocer la glicoproteína Kidd en su función como transportador de urea, gen codificante, los antígenos JK1, JK2, JK3, sus características, frecuencia fenotípica importancia clínica e incidencia de aparición de sus anticuerpos
- Enumerar las múltiples funciones de la estructura del sistema Diego relacionada con la proteína multipaso Banda3 y la glicoforina A, la conformación antigénica del sistema, sus fenotipos, utilización como marcador antropológico y las características de sus anticuerpos: realzando la importancia clínico transfusional y obstétrico-feto-neonatal de algunos de ellos; significativamente más frecuentes en los nativos americanos que en otras poblaciones occidentales.
- Conocer modo de obtención y forma de uso de reactivos hemotipificadores para los sistemas mencionados, tanto policlonales, monoclonales como lectinas.

Unidad 9: Identificación de anticuerpos irregulares, métodos, interpretación de resultados. Cálculos de probabilidad. Selección de glóbulos rojos para transfusión. Cuantificación de Anticuerpos.

- Describir las características de manufacturación de distintas presentación de paneles celulares identificadores, umbral de resolución y uso apropiado.
- Adquirir las herramientas metodológicas necesarias para llevar a cabo la identificación de las distintas especificidades: método de exclusión preliminar de anticuerpos posibles, análisis de las características serológicas de la especificidad involucrada, frecuencia poblacional del antígeno hacia el cual se dirige el anticuerpo supuesto; probabilidad de error en el diagnóstico de cada especificidad de aloanticuerpo, entre otras herramientas.
- Describir la selección de hemocomponentes para transfusión en pacientes sensibilizados, conocer los reactivos hemotipificadores para grupos sanguíneos, distintos de ABO y D, de uso más frecuente, detallando las indicaciones de uso de los mismos con algunos ejemplos sencillos.
- Incorporar la noción de la existencia de otras técnicas inmunohematológicas específicas para intentar resolver casos complejos.
- Conocer la relevancia clínica de los anticuerpos de aparición más frecuente o de poder lítico conocido.
- Describir la estructura base de protocolos de estudios inmunohematológicos para aloinmunidad.
- Formar criterio sobre la importancia crítica del registro sistemático y objetivo de los hallazgos, conocer algunas ventajas de la informatización de resultados y la adaptabilidad a nuevas tecnologías

- Conocer los métodos de conservación en el tiempo de muestras reactivas en serotecas y hemotecas y la posibilidad y mecanismos de acceso a bases de datos internacionales para localizar donantes negativos para antígenos eritrocitarios de alta prevalencia o negativos para múltiples antígenos comunes.
- Ejecutar la técnica de titulación de anticuerpos, poder describir el método, su fundamentación y usos.

Contenidos:

Unidad 1. Inmunoematología aplicada a la Medicina Transfusional

La respuesta inmune a transfusión o embarazo: Receptores de inmunoglobulinas. Participación de Linfocitos T y B en la inmunidad humoral, inmunoglobulinas involucradas. Definición de aloinmunización eritrocitaria y de autoinmunidad. Hemólisis in vivo: intra y extravascular. Hemólisis in Vitro. Anticoagulantes para uso in Vitro. Observación de las características de la muestra a analizar. Diferencias entre suero y plasma. Antígenos, determinantes antigénicos, repulsión eléctrica entre eritrocitos, antigenicidad, efecto de dosis. Tipo y subclase de inmunoglobulina, idiotipos. Inmunoglobulinas en fluidos distintos al plasma, producción de inmunoglobulinas en el feto y el infante. Concepto de sensibilidad y especificidad en pruebas de laboratorio. Reacciones Antígeno-anticuerpo eritrocitarias: uniones químicas. Efectos osmóticos. Aglutinación directa e indirecta. Factores que afectan la etapa de sensibilización y aglutinación: relación suero/glóbulos, pH, tiempo de incubación, temperatura, centrifugación. Descripción de otras variables relevantes en la investigación inmunoematológica.

Preparación de suspensiones globulares en medio salino y otros medios. Lectura e interpretación de las prueba serológicas, graduación de resultados. Reacciones falsas o engañosas: rouleaux, gelatina de Wharton, poliaglutinación, panaglutinación, Pruebas de inhibición.

Material y métodos utilizados en las pruebas de aglutinación. Instauración de controles positivos y negativos.

Unidad 2. Los grupos sanguíneos humanos. Rol biológico. Nomenclatura de la ISBT.

Los antígenos de grupos sanguíneos humanos: su definición amplia y los grupos sanguíneos eritrocitarios. Otros grupos sanguíneos no eritrocitarios. Rol biológico. Requisitos para considerar un grupo sanguíneo. Herencia y genética. Estructuras químicas. Clasificaciones y nomenclatura. Sistemas, colecciones y series de antígenos. Particularidades en diferentes razas y etnias. Lectura e interpretación de tablas con datos de relevancia clínica de los distintos sistemas. Obsolescencia de nomenclatura. Fuentes de actualización permanente en terminología de antígenos de grupos sanguíneos de la Sociedad Internacional de Transfusión Sanguínea (ISBT). Noción de grupos sanguíneos leucocitarios, plaquetarios y plasmáticos. Anticuerpos monoclonales: definición, ventajas y desventajas.

Unidad 3. Genética de los grupos sanguíneos. Grupos sanguíneos ABO, H, Lewis y antígenos relacionados estructuralmente. Grupo sanguíneo P1PK y P

Bioquímica y genética. El sistema ABO durante el desarrollo y el envejecimiento. Distribución antigénica en la población. Subgrupos ABO. Fenotipos. Casos poco frecuentes: B adquirido, cis AB. Anticuerpos del ABO. Anticuerpos IgM e IgG del sistema. Anti-A,B en individuos de grupo O. Hemolisinas. Prueba directa e inversa. Discrepancias ABO. El sistema H, bioquímica y genética, fenotipos nulos. fenotipo Bombay. Práctica transfusional.

Individuos secretores y no secretores de ABH, presencia de ABH sobre distintas células del organismo y sobre bacterias. Lectinas.

El sistema Lewis, genética y fenotipos. Anticuerpos del sistema Lewis, particularidades en la mujer embarazada, relación con ABH.

Antígenos I e i, su presencia en células somáticas y secreciones, fenotipos, anticuerpos, auto-anti-I normal. Anti-HI, -AI, -BI, -P1I, y HILeb. Grupos sanguíneos P1PK y P, colección GLOB, fenotipos y anticuerpos del grupo sanguíneo P.

Interacciones entre sustancias de grupo sanguíneo y microorganismos, asociación con enfermedades y rol biológico.

Indicaciones de uso de reactivos comerciales de utilización frecuente. Distintos métodos. Automatización. Informatización de resultados. Mención de nuevas tecnologías y ensayos de campo en curso.

Unidad 4. El Sistema Rh

Terminología de la Sociedad Internacional de Transfusión Sanguínea (ISBT). Genes RHD y RHCE. Proteínas, antígenos y fenotipos Rh. Cantidad de sitios antigénicos en los distintos fenotipos. Nomenclatura de Fisher y Wiener. Genotipo más probable y real. El antígeno D. Estructura. D positivo (Rh positivo). D débil. D parcial. D elevado. Variabilidad genética, mutaciones, deleciones, entrecruzamientos. Tipificación D en donantes y pacientes. Anticuerpos monoclonales. Fuentes de elaboración, uso, ventajas y desventajas. Usos de la genotipificación D. Particularidades de la tipificación Rh en la Enfermedad Hemolítica Feto-neonatal.

Otros alelos RHCE. Antígenos compuestos. El antígeno G. Síndrome Rh nulo y sistema de grupo sanguíneo RHAG. Estructura y función de las proteínas Rh. Glicoproteína LW (ICAM-4). Consideraciones clínicas.

Anticuerpos Rh. Características del anti-D. Inmunización Rh por transfusión. Pacientes respondedores y no respondedores. Anticuerpos Rh concomitantes. Anticuerpos contra antígenos de alta prevalencia. Efecto del anti-D sobre la formación de otros alo-anticuerpos. Influencia de la incompatibilidad ABO en la inmunización primaria. Inmunización Rh D por glóbulos rojos contaminantes en concentrados plaquetarios y aloinjertos. Introducción a la supresión de la inmunización primaria Rh D por administración pasiva de anti-D.

Consideraciones metodológicas para la tipificación Rh. Instauración de controles. Falsos resultados. Resolución de las discrepancias durante la tipificación D. Nuevas tecnologías y ensayos de campo en curso.

Unidad 5. El test de la antiglobulina humana o prueba de Coombs.

El Suero de Coombs: definición, función, elaboración de reactivos antiglobulina policlonales. Anticuerpos requeridos en un reactivo antiglobulina. La concentración óptima de anti-IgG. Diluyente para reactivos antiglobulina. Relación entre el número de moléculas de IgG unidas y las reacciones con anti-IgG. La inhibición de anti-IgG por IgG en solución. Reactividad anti-IgM. Reactividad anti-IgA. La reacción contra

diferentes fracciones del complemento ligado. Elaboración y características de reactivos monoclonales murinos, humanos, otros.

Reactivos poliespecíficos, oligoespecíficos, monoespecíficos. Pruebas de Coombs directa e indirecta: definición, diferencias, aplicaciones e interpretación de los resultados. Resultados positivos falsos. Resultados negativos falsos. Fuentes de error en la implementación de la técnica. El uso correcto del control de Coombs.

Unidad 6. Detección de Anticuerpos Irregulares. Uso de diferentes métodos y medios de reacción.

Concepto de pruebas cruzadas, aplicaciones. Valor de la detección de anticuerpos irregulares en el manejo transfusional y de la paciente obstétrica. Comportamiento serológico de anticuerpos naturales e inmunes. Concepto de sensibilización. Respuesta primaria y secundaria a antígenos eritrocitarios. Persistencia de IgM e IgG en el tiempo. Diferencias individuales en la respuesta inmune. Incidencia de aparición de anticuerpos anti-eritrocitarios en diversos grupos poblacionales. Debilitamiento antigénico y aparición de anticuerpos en el suero.

Detección de anticuerpos: Materiales y Métodos. Paneles celulares: elaboración, características, conservación y uso. Control autólogo. Diferencias cuantitativas entre glóbulos rojos de distintos donantes, entre donantes del mismo fenotipo o entre recién nacidos y adultos. Individuos homocigotas y heterocigotas.

Método convencional en tubo: salino/antiglobulina. Alternativas a métodos de detección convencionales. Reducción de IgM con compuestos sulfhidrilos. Utilización de potenciadores y otros medios de reacción. Polietilenglicol (PEG). Enzimas proteolíticas. Efecto de las enzimas sobre determinados antígenos. Tratamiento enzimático en una y dos etapas. Baja fuerza iónica (LISS). Policaciones. La prueba manual de Polybrene. El uso de la albúmina bovina, sus aplicaciones.

Validación de métodos en los estudios inmunohematológicos, reproducibilidad, valor predictivo, implementación de controles.

Técnicas diferentes al método en tubo: aglutinación en columnas, fase sólida, sistemas automatizados. Sensibilidad relativa de los diferentes métodos para detectar anticuerpos y su posibilidad de combinación con la prueba antiglobulínica.

Unidad 7. Procedimientos pretransfusionales

Solicitud de transfusión. Identificación del paciente y de su muestra. Anamnesis. Muestras con hemólisis, ictericas, lipémicas o con coagulación incompleta. Antigüedad de la muestra. Almacenamiento de las muestras del receptor y del donante.

Pruebas pretransfusionales. Grupo ABO y Rh del receptor. Comparación de resultados con registros previos. Pruebas requeridas en el donante: Selección del hemocomponente para transfusión. Compatibilidad ABO, Tipificación Rh.

La selección del hemocomponente cuando no se dispone de unidades ABO idénticas.

Búsqueda de anticuerpos irregulares en el receptor y en el donante. Pruebas cruzadas pretransfusionales: Pruebas mayores y menores. Concepto de incompatibilidad mayor y menor. Concepto de incidente y accidente transfusional. Prueba de compatibilidad salina. Prueba de compatibilidad en medio antiglobulínico. Utilización adicional de otros medios de reacción en pacientes particulares. Pruebas computarizadas. Prueba de compatibilidad abreviada. Causas de pruebas pretransfusionales positivas. Disponibilidad de sangre compatible.

Rotulado de hemocomponente con información del receptor.

Pruebas pretransfusionales en el marco de las Normas Argentinas de Medicina Transfusional.

Consideraciones clínicas: Pacientes menores de 4 meses de edad. Administración de sangre en situaciones de extrema emergencia. Transfusión masiva.

Posibilidad de fenotipaje extendido en donantes y receptores para otros antígenos de grupo sanguíneo de importancia clínica: Rh, Kell, Duffy, Kidd, MNS, Diego, entre otros. La profilaxis de aloimmunización en pacientes de bajo requerimiento transfusional y mujeres en edad fértil. El paciente recientemente transfundido y/o politransfundido. Muestras con campos mixtos: observación, registro, interpretación. Nociones de genotipificación en pacientes que no pueden ser clasificados por fenotipificación. Particularidades del paciente en el período peritrasplante de médula ósea y de órganos sólidos.

Unidad 8. Sistemas KEL, FY, JK, MNS y DI.

El sistema MNS. Las glicoproteínas del sistema MNS y los genes que las codifican. M (MNS1), N (MNS2), S (MNS3), y s (MNS4). Frecuencias de algunos fenotipos del Sistema MSN. Los genes GYPA, GYPB y GYPE. El Fenotipo S- s- U- . Anticuerpos relevantes del sistema y su importancia clínica.

Sistemas KEL y Kx. La glicoproteína Kell y el gen KEL. Los antígenos Kell. Frecuencias de algunos fenotipos Kell. Anticuerpos Kell y su relevancia clínica. Fenotipos Nulos (Ko) y Mod. Aspectos funcionales. Antígeno Kx (XK1), Síndrome McLeod, y Fenotipo McLeod.

El Sistema Duffy. Fya (FY1) y Fyb (FY2). Gen FY. Fenotipos y genotipos Duffy en poblaciones seleccionadas. Fy3, Fy5 y Fy6. Anticuerpos Duffy y su relevancia clínica. La glicoproteína Duffy, un receptor para citoquinas. El Sistema Duffy y malaria.

El Sistema JK. Gen JK. Antígenos Jka (JK1) y Jkb (JK2). Fenotipo Jk(a-b-) y antígeno Jk3. Anticuerpos Kidd y su relevancia clínica. La glicoproteína Kidd, un transportador de urea.

El Sistema DI Banda3, el intercambiador eritrocitario de aniones. Dia (DI1) y Dib (DI2); anti-Dia y -Dib . Wra (DI3) y Wrb (DI4), anti-Wra y -Wrb.

Obtención y uso de reactivos tipificadores para los sistemas mencionados: policlonales, monoclonales, lectinas.

Unidad 9. Identificación de anticuerpos irregulares, métodos, interpretación de resultados. Cálculos de probabilidad. Selección de glóbulos rojos para transfusión. Cuantificación de Anticuerpos Irregulares.

Importancia de la identificación. Paneles celulares para identificar a anticuerpos irregulares. Consideraciones preanalíticas. Método: exclusión preliminar de anticuerpos posibles, análisis de las características serológicas de la especificidad involucrada, prevalencia en la población del antígeno hacia el cual se dirige el anticuerpo hallado, perfil antigénico del paciente, probabilidad de error en el diagnóstico de la especificidad. Especificidad no resuelta.

Selección de sangre para transfusión en pacientes sensibilizados. Uso de reactivos hemotipificadores en la búsqueda de glóbulos rojos adecuados. Pacientes con especificidades múltiples. Relevancia clínica de los anticuerpos hacia grupos sanguíneos según el sistema, serie o colección a la que pertenezcan, evaluación de su cantidad y poder lítico conocido. Anticuerpos "de alto título y baja avidéz". Adecuación de protocolos de estudios inmunohematológicos a la complejidad y particularidades de

distintos servicios de Medicina Transfusional. La importancia del registro de los hallazgos y seguimiento inmunohematológico pertinente del paciente. Informatización de resultados. Sistemas automatizados. Nuevas tecnologías. Conservación de muestras reactivas. Seroteca. Hemoteca. Bases de datos internacionales para localizar donantes negativos para antígenos eritrocitarios de alta prevalencia o negativos para múltiples antígenos comunes.

Quantificación de anticuerpos. Método de titulación. Diferentes usos.

Carga Horaria:

- Horas cátedras teóricas. 50 hs.
- horas reloj prácticas profesionalizante. 30 hs.

Evaluación:

El proceso de enseñanza-aprendizaje tendrá una modalidad presencial: clases teóricas seguidas de una mesa de discusión ó de un trabajo práctico en los que se hará una aproximación transversal de los contenidos mediante la implementación de talleres con presentación de casos clínicos de resolución colectiva o en grupos y/o experiencias prácticas básicas laboratoriales /hospitalarias.

Los teóricos serán abordados en su mayor parte a través de instancias mixtas que consistirán en presentaciones multimedia interactivas con exhibición de imágenes y en los casos pertinentes, también videos.

El alumno deberá estar presente y aprobar el 80% de las mesas de discusión y actividades prácticas realizadas para ser considerado alumno regular en la materia.

Evaluación:

a) Criterios de evaluación:

Se impartirán clases teóricas y se estimulará la participación activa en mesas de discusión posteriores a las mismas, poniendo énfasis en la utilización fluida, por parte del alumno, de la terminología adecuada propia de la asignatura. Eventualmente puede solicitarse al alumno, con suficiente anticipación y con su consentimiento, investigue sobre algún tema incluido en el programa para exponerlo en forma oral o monográfica muy brevemente en las mesas de discusión.

Durante el examen parcial y el examen final se evaluarán los conceptos presentes en la bibliografía obligatoria, los marcos teórico-prácticos enseñados en el transcurso de la materia y especialmente la incorporación y manejo satisfactorios de los conceptos inmunohematológicos necesarios para la práctica en un Servicio de Medicina Transfusional.

b) Pautas de evaluación

Habrá 1 (un) examen parcial que el alumno deberá aprobar para poder rendir el examen final como alumno regular. Si resultara desaprobado, -o no se hubiere presentado-, tendrá la oportunidad de volver a rendir en una sola de las fechas anunciadas para la recuperación.

Tanto en evaluaciones parciales como finales, el alumno aprobará el examen con una nota igual o mayor a 4, donde nota 4 equivale a un 60% de respuestas correctas del máximo posible considerado.

La modalidad de evaluación de los exámenes parciales será escrita de respuesta cerrada (selección múltiple).

La modalidad de evaluación de los exámenes finales podrá ser: escrita de respuesta cerrada (selección múltiple) o estructurada escrita de respuesta libre u oral.

La mesa examinadora podrá desestimar la evaluación escrita de respuesta cerrada (selección múltiple), tanto en exámenes parciales como finales, cuando el número de alumnos a evaluar sea notoriamente bajo.

Las pautas de evaluación serán anunciadas durante la primera semana de iniciadas las clases.

Podrá considerarse adjudicar una calificación de desempeño en forma sistemática durante las mesas de discusión o trabajos prácticos basada en la valoración docente de habilidades comunicacionales del alumno, como así también su participación en grupos de trabajo, precisión en la ejecución de procedimientos y capacidad para aplicar, en situaciones concretas, los conocimientos teórico-prácticos adquiridos. De implementarse esta metodología, los alumnos serán informados de tal decisión durante la primera semana de iniciadas las clases.

Si se considerara pertinente la implementación de evaluaciones parciales adicionales, esto será debidamente anunciado por la Unidad Académica al alumnado en la primera semana de clases.

Bibliografía:

Bibliografía de lectura obligatoria:

- **Manual Técnico de la Asociación Americana de Bancos de Sangre.** Traducción al español de la 17^a Edición, por la Asociación Argentina de Hemoterapia e Inmunohematología, Buenos Aires, 2012.
- **Immunoematology Methods and Procedures.** American Red Cross National Reference Laboratory, Rockville, 1^a Ed., 1993.
- Los volúmenes de la **Revista Argentina de Transfusión**, editada por la Asociación Argentina de Hemoterapia e Inmunohematología, contienen monografías, revisiones, trabajos de investigación, comunicaciones científicas y traducciones de otras, que son una fuente permanente y actualizada en idioma español de un material bibliográfico muy útil. El equipo docente seleccionará de entre ellos y sugerirá oportunamente a los alumnos aquellos que considere los documentos más adecuados y/o necesarios para el estudio de los diversos contenidos de esta asignatura.
- **Guías de Trabajos Prácticos** de la asignatura Inmunohematología, confeccionada por el grupo docente a cargo.

Bibliografía de lectura optativa:

- Judd's Methods in Immunoematology. Judd WJ, Johnson S, Storry J. 3^o Ed. Bethesda, MD: AABB Press: 2008.
- Human Blood Groups. Geoff Daniels. 2^o Ed. Blackwell Science; 2002.
- The Blood Group Antigen FactsBook. Marion E. Reid, Christine Lomas-Francis, Academic Press
- An Imprint of Elsevier; 2004

- Mollison's Blood Transfusion in Clinical Medicine. Harvey Klein, David Anstee. 11° Ed. Blackwell Publishing; 2005. A revision of the 10th edition written by P.L. Mollison, C.P. Engelfriet and Marcela Contreras.
- Normas Técnicas y Administrativas de Hemoterapia (Resolución 797/2013 del Ministerio de Salud de la Nación)
- Ley 22.990 – Ley Nacional de Sangre
- Decreto 1338/04 de reglamentación a la Ley Nacional de Sangre 22990