

Detección, análisis y resolución de discrepancias en el grupo sanguíneo ABO

RESUMEN

La mayoría de los grupos sanguíneos ABO que se determinan en el banco de sangre cumplen con las leyes establecidas de antígenos y anticuerpos recíprocos para ese sistema, pero hay una población que presenta discrepancias que deben ser resueltas para definir el grupo exacto. Estas diferencias se pueden presentar por detectarse grupos débiles de A: A3, Am, Ax, Ael, Aend y de B: B3, Bx y Bm que se resuelven generalmente con técnicas de adsorción-elusión e investigación de sustancias A, B y H en la saliva de secretores que presentan estas incongruencias. Otro tipo de discrepancias se presentan en personas con anticuerpos naturales irregulares como anti-A1, anti-H, -M, -N, -P1, Lea, Leb; anticuerpos inmunes que se detectan en medio salino como producto de una reacción primaria o en pacientes con anemia hemolítica autoinmune y en sujetos con complejos inmunes relacionados a SIDA o con proteínas anormales como en el mieloma múltiple.

SUMMARY

Most of the ABO blood groups dealt with at the blood bank comply with the established laws of reciprocal antigen and antibody for that system, but there is a population that shows some discrepancies that must be sorted out in order to define the exact group. These differences can arise from the detection of weak groups of A (A3, Am, Ax, Ael, Aend) and B (B3, Bx, Bm), that are generally solved with adsorption-elusion techniques and investigation of A, B and H substances in saliva of patients with such incongruities. Another type of discrepancies takes place in people with natural irregular antibodies (such as anti-A1, anti-H, -M, -N, -P1, Lea, Leb), immune antibodies that are detected in a saline medium as the result of a primary reaction, or in patients with Autoimmune Hemolytic Anemia and patients with Immune Complexes related to AIDS, or with abnormal proteins, such as Multiple Myeloma.

Discrepancias en los grupos sanguíneos

El sistema ABO es el único en el que los anticuerpos recíprocos están presentes en el suero de las personas normales que no han tenido exposición a eritrocitos humanos.¹ La determinación de los grupos ABO difiere de la de otros grupos sanguíneos porque es el único en que pueden predecirse generalmente los antígenos presentes en los eritrocitos, si se conocen los anticuerpos que existen en el suero.

El método estándar para determinar el grupo ABO de una muestra es examinar los hematíes frente a anti-A, anti-B, anti-AB y el suero frente a hematíes del grupo A1, A2 y B. En la práctica, se incluye el estudio de los hematíes frente a suero del grupo O, con el fin de detectar aquellas muestras raras del grupo A que no son aglutinadas por un anti-A procedente de un donante del grupo B y para detectar anticuerpos irregulares que estén causando discrepancia entre el grupo directo y el inverso.

Palabras clave:

- ✓ grupo sanguíneo
- ✓ sistema ABO
- ✓ discrepancias

Key words:

- ✓ blood groups
- ✓ ABO system
- ✓ discrepancies

Los anticuerpos del sistema ABO existen en el individuo desde el momento en que son capaces de tener una respuesta inmunológica y se producen contra los antígenos A y B de los cuales carece el individuo: anticuerpos antitéticos que son anticuerpos naturales regulares, de amplio rango térmico (4 a 37 °C), son una mezcla de IgG, IgM, e IgA.

En el cuadro I se observa el agrupamiento del sistema ABO de rutina.

Los genes de tres loci separados (*ABO*, *Hh* y *Sese*) controlan la aparición y la localización de los antígenos H, A y B. Tres alelos comunes (A, B y O) se localizan en locus ABO del cromosoma 9.

Los glucoesfingolípidos, que portan oligosacáridos A o B, son partes integrales de las membranas de eritrocitos, células epiteliales y células endoteliales y también en forma soluble del plasma. La saliva contiene moléculas de glucoproteínas que pueden, si la persona posee el gen secretor (*Se*), portar idénticos oligosacáridos.

Subgrupos²

Los subgrupos son fenotipos ABO que difieren en la cantidad de antígeno presente en los eritrocitos y en la saliva de los secretores. Se hallan con mayor frecuencia y tienen más relevancia clínica los de A, que los de B. Al utilizar lectinas se definen los subgrupos: A1 y A2: con el extracto de *Dolichos biflorus* se aglutinan los eritrocitos A1, pero no los de A2; y el anti-H,

proveniente de la semilla *Ulex europeus*, aglutina los eritrocitos que tienen antígeno H.

Los eritrocitos de recién nacidos que son genéticamente A1 reaccionan de forma relativamente débil con el anti-A1 humano. Los eritrocitos fetales A2 se comportan como los Ax adultos porque las transferasas actúan de manera lenta en los RN. Cuando se comparan las reacciones de los eritrocitos de los niños y adultos de grupo A con sueros anti-A, sólo se encuentran pequeñas diferencias en cuanto a la aglutinación de los eritrocitos suspendidos en medio salino, pero las diferencias son más evidentes en la prueba de antiglobulina indirecta (anti-IgG) y las pruebas de LISS (Low Ionic Strength Solution).

Variaciones de antígenos débiles³

Los subgrupos más débiles de A2 aparecen de manera infrecuente y en general se caracterizan por números decrecientes de sitios antigénicos A en los eritrocitos y un incremento recíproco en la actividad del antígeno H.

La clasificación de los subgrupos A débil se basa en:

1. Grado de aglutinación eritrocitaria por anti-A y anti-A1.
2. Grado de aglutinación eritrocitaria por anti-A,B.
3. Grado de aglutinación eritrocitaria por anti-H.

Cuadro I
Agrupamiento de ABO de rutina

Reacción de las células investigadas con			Reacción del suero investigado contra				Interpretación	Frecuencia (%) población
anti-A	anti-B	anti-AB	cel. A1	cel. A2	cel. B	cel. O	Grupo ABO	D.F.
0	0	0	+	+	+	0	O	72.02
+	0	+	0	0	+	0	A	19.75
0	+	+	+	+	0	0	B	7.01
+	+	+	0	0	0	0	AB	1.22

+ = aglutinación
0 = no aglutinación

4. Presencia o ausencia de anti-A1 en el suero.
5. Presencia de sustancias A y H en la saliva de secretores.

Los eritrocitos de los subgrupos Ax, Ael, Aint o A3 se observa rara vez en la práctica transfusional.

Los grupos principales de A débil son:

A_{int}: Células: tipo de A intermedio, su reacción con anti-A y anti-A1 es más débil que los eritrocitos A1 y más fuerte con anti-H que los eritrocitos A2, producen un patrón de campo mixto característico de pequeños aglutinatos entre muchas células libres en las pruebas con anti-A y anti-B.

A_x: Las células tienen una reacción muy débil con anti-A, o no la presentan. Buena reacción con anti-A,B. En el suero, el anti-A no existe o es muy débil y habitualmente contiene anti-A1. En saliva, cuando es secretor, sólo se detecta el antígeno H. La adsorción-elusión con anti-A es positiva.

A_m: Células: reacción negativa o débil con anti-A y anti A,B. En suero, no se detecta anti-A o anti-A1; en saliva de secretor se encuentran antígenos A y H. Aparece por lo general

como del grupo O, las células adsorben anti-A como se demuestra por su elusión posterior.

A_{end}: A débil debido en apariencia a un alelo de ABO, pero que no se cataloga como Ax, ni Am. La saliva contiene H, pero no A.

A_{el}: No son aglutinados por anti-A ni por anti-A,B de ningún origen, Ael es aún más débil que Aend; al antígeno A se puede demostrar sólo con absorción-elusión. La saliva de los secretores contiene H pero no A.

Los grupos débiles de A como Ax, Am y Ael no pueden ser identificados en forma confiable sólo sobre la base de las pruebas tipificación de sangre. Los estudios de la saliva, de absorción-elusión, transferasas y los estudios familiares son confirmatorias.

El cuadro II muestra las características serológicas de los subgrupos de A y B.

Los subgrupos de B⁴ son aún menos comunes que los subgrupos de A. Las células reaccionan débilmente o nada con anti-B y anti-A,B. Se pueden dividir en:

1. Anti-B en suero; B en saliva. De carácter dominante, encontrado en familias inglesas, el anti-B reacciona con todas las células B probadas excepto las propias.

Araceli Nieto Rodríguez.
Discrepancias en el grupo sanguíneo ABO

Cuadro II
Características serológicas de subgrupos de A y B

Fenotipo eritrocitario	Reacción de células con antisuero contra					Reacción de suero contra eritrocitos				Saliva de secretores
	A	B	A, B	H	A1	A1	A2	B	O	
A ₁	4+	0	4+	0	4+	0	0	4+	0	A&H
A _{int}	4+	0	4+	3+	2+	0	0	4+	0	A&H
A ₂	4+	0	4+	2+	0	**	0	4+	0	A&H
A ₃	2+cm	0	2+cm	3+	0	**	0	4+	0	A&H
A _m	0/±	0	0/±	4+	0	0	0	4+	0	A&H
A _x	0/±	0	1+/2+	4+	0	2+/0	0/1+	4+	0	H
A _{el}	0	0	0	4+	0	2+/0	0	4+	0	H
B	0	4+	4+	0		4+	4+	0	0	B&H
B ₃	0	1+cm	2+cm	4+		4+	4+	0	0	B&H
B _m	0	0	0/±	4+		4+	4+	0	0	B&H
B _x	0	0/±	0/2+	4+		4+	4+	0	0	H
B _{el}	0	0	0	3+		1+	1+	0	0	H

1+ a 4+ aglutinación de intensidad creciente; ± aglutinación débil; cm aglutinación de campo mixto, 0 no hay aglutinación.

++ la aparición de anti-A1 es variable en estos fenotipos. Las personas A2 con frecuencia tienen anti-A1; las personas A2 suelen no tenerlo, pero se han hallado algunos individuos A3 con anti A1 en el suero.

2. No anti-B en el suero (o muy débil anti-B frío); B en la saliva, un carácter dominante, llamado Bw, encontrado en raza negra, y en japoneses llamado Bm.
3. No anti-B en el suero; H pero no (o dudoso) B en la saliva. Un carácter dominante llamado B3, encontrado en familias indias, francesas.

Antígeno B adquirido por los individuos A1⁵

El "B adquirido" podría deberse a la acción de la desacetilasa bacteriana, que convierte la N-acetilgalactosamina en α -galactosamina, la cual es muy similar a la galactosa, el principal determinante de B. Las células B adquiridas se hacen más reactivas frente al extracto de *Dolichus biflorus*. También pueden presentar activación T o Tk, estando mediadas todas esas alteraciones por enzimas bacterianas en pacientes que cursan con una infección importante como la de colon. Otro mecanismo de producción de grupo B adquirido secundario a la absorción de sustancias bacterianas semejante al grupo B se observa en personas infectadas por *Proteus vulgaris* o *Escherichia coli*. También se ha descrito un grupo B adquirido que se detecta sólo en células del grupo A de expresión débil.

Debilitamiento de antígenos A, B y H⁶

El debilitamiento de la expresión de antígenos AB puede observarse en las personas de edad avanzada (aparentan ser grupo O); los anticuerpos anti-AB también pueden sufrir cambios en estos sujetos. En pacientes que estén recibiendo quimioterapia inmunodepresora la concentración de anticuerpos disminuye significativamente. En ocasiones la sangre parece contener una mezcla de células de los grupos A y O o de A1 y A débil; en otros casos, los eritrocitos reaccionan débilmente con el anti-A y se comportan de manera parecida al A3 o al Am.

Secretores y no secretores

Los genes secretores *Se* y *se* controlan la secreción de H, A y B. Alrededor de 80 % de los

individuos son secretores y segregan la sustancia H, independientemente de su grupo ABO; así la saliva de secretores de grupo O contiene H y la de secretores de grupo A contiene A y H. Veinte por ciento de los individuos que no segregan sustancia H (no secretores) tampoco segregan A ni B.

Aglutinación de campo mixto

Término que trata de describir la presencia de eritrocitos aglutinados y no aglutinados en suspensiones tratadas con una aglutinina. Esto quiere indicar que existen dos poblaciones fenotípicamente distintas, como sucede en pacientes transfundidos, en mujeres que contienen en circulación eritrocitos fetales, o cuando alguno de los eritrocitos de un sujeto ha sufrido transformación T o Tn. Puede verse una morfología similar en mezclas de suspensiones eritrocitarias de un único fenotipo, cuando los eritrocitos tienen pocos lugares antigénicos (por ejemplo, variantes débiles de A), o cuando la aglutinina es de título bajo.

Discrepancias entre pruebas con eritrocitos y suero⁷

Los resultados de las pruebas con eritrocitos y con suero pueden ser discrepantes debido a los problemas intrínsecos de los eritrocitos o del suero, debido a problemas relacionados con la prueba, o a errores técnicos, ya sea que se han obtenido resultados negativos cuando se esperaban positivos o viceversa.

Negativos falsos

Pueden tener lugar debido a la omisión de:

1. Agregar reactivo o suero de prueba a un tubo.
2. Identificar la hemólisis como una reacción positiva.
3. Uso de una relación apropiada entre suero (reactivo) y eritrocitos.
4. Centrifugar suficientemente las pruebas.

5. Incubar las pruebas a temperaturas de 20-24° °C o menores.
6. Interpretar o registrar correctamente los resultados de las pruebas.

Positivos falsos

Los resultados pueden ocurrir por:

1. Sobrecentrifugación de los tubos.
2. Uso de reactivos, eritrocitos o solución salina contaminados.
3. Uso de material de vidrio sucio.
4. Autoaglutinación de los eritrocitos del paciente y realización sólo del grupo directo sin autotestigo.
5. Interpretación o registros incorrectos de los resultados de las pruebas.

Resolución de discrepancias ABO

El primer paso debe ser la repetición de las pruebas en la misma muestra. Si las pruebas iniciales fueron efectuadas con eritrocitos suspendidos en suero o plasma, se debe repetir la prueba, usando una suspensión salina de células lavadas. Si persiste la discrepancia se procede a lo siguiente:

1. Obtener una nueva muestra (donante o receptor) y someter ésta a prueba; esto resuelve las discrepancias debidas a un rotulado equivocado o contaminación de muestra.
2. Lavar los eritrocitos varias veces para eliminar componentes séricos o químicos que puedan estar causando reacciones positivas.
3. Someter a prueba los eritrocitos con anti-A, B, anti-A1 o anti-H, según corresponda.
4. Si se sospecha anti-A1, examinar el suero contra varios ejemplos de eritrocitos del grupo A2.
5. Revisar los resultados de la prueba de investigación de anticuerpos contra eritrocitos del grupo O para detectar efectos de interferencia por aloanticuerpos fríos inespecíficos.
6. Incubar las pruebas durante 30 minutos a temperatura ambiente para facilitar la detección de antígenos o anticuerpos débiles.

Resolución de discrepancias debidas a la ausencia de antígenos esperados

La causa de una discrepancia puede ser inferida a veces de la fuerza de las reacciones obtenidas en las pruebas de agrupación con eritrocitos o suero.

Se pueden usar los siguientes procedimientos para intensificar la detección de antígenos débilmente expresados:

1. Incubar eritrocitos lavados con anti-A y anti-B durante 30 minutos a temperatura ambiente para incrementar asociación de anticuerpos con escasa cantidad de antígeno. Incubar a 4 °C puede intensificar aún más la fijación del anticuerpo, pero deben ser controladas con eritrocitos de grupo O y autólogos para asegurar que las reacciones son debidas a anti-A y anti-B y no a otras aglutininas frías.
2. Tratar los eritrocitos del paciente con una enzima proteolítica, como ficina, papaína, o bromelina. El tratamiento enzimático incrementa la reacción antígeno-anticuerpo con anti-A o anti-B. Paralelamente se deben incluir eritrocitos del grupo O tratados con enzimas como control de la especificidad de la reacción ABO.
3. Realizar adsorción-elusión con anti-A o anti-B humanos para adsorber el anticuerpo a los correspondientes antígenos eritrocitarios. No se debe usar anti-A1 o reactivos monoclonales y debe hacerse en paralelo con eritrocitos de grupo O para control.
4. Buscar en la saliva la presencia de sustancias H, A o B.

Resolución de discrepancias debidas a reacciones inesperadas con anti-A y anti-B

Las pruebas de agrupación de eritrocitos dan reacciones inesperadas, pueden ser responsables alelos variantes en el locus ABO o problemas no relacionados con los genes ABO.

Para confirmar que los eritrocitos del grupo A1 portan la estructura adquirida B:

1. Verificar el diagnóstico del paciente. Los antígenos adquiridos B suelen relacionarse con afecciones hísticas que permiten ingresar a las bacterias del colon a la circulación.
 2. Someter a prueba el suero del paciente contra eritrocitos autólogos. El anti-B del individuo no aglutina sus propios eritrocitos que portan el B adquirido.
 3. Someter a prueba los eritrocitos con suero anti-B humano que ha sido acidificado a pH 6.0. El anti-B humano acidificado no reacciona con el antígeno B adquirido.
 4. Si el paciente es secretor, comprobar la presencia de A y B en la saliva. Los secretores cuyos eritrocitos portan estructuras B adquiridas tienen sustancias A, pero no B en su saliva.
1. Los pacientes inmunodeficientes pueden no producir niveles detectable de anti-A y anti-B; estos anticuerpos están ausentes del suero de recién nacidos, o ser muy débiles en personas seniles normales.
 2. Concentraciones anormales altas de anti-A y anti-B han causado reacciones prozona que dieron lugar a resultados negativos falsos; en estos casos, el grupo ABO se puede inferir mediante pruebas en eritrocitos por dilución del suero mediante el uso de suero tratado con EDTA.
 3. El anti-A en el suero de individuos A₂, A₂B u otros subgrupos aglutina eritrocitos testigos A₁.
 4. Las autoaglutininas frías como anti-I y anti-IH, pueden aglutinar los eritrocitos de todos los adultos, incluidas las células autólogas y eritrocitos testigos, cuando esta reactividad interfiere en la interpretación de las pruebas:
 - a) Calentar el suero y los eritrocitos testigos a 37 °C antes de mezclarlos y realizar las pruebas en suero a 37 °C y convertirlas a la fase antiglobulina si es necesario.
 - b) Eliminar la autoaglutinina fría del suero mediante un método de autoadsorción fría, el suero adsorbido puede ser sometido contra eritrocitos testigos A1 y B.
 - c) Tratar el suero con DTT y usar el suero tratado para pruebas de agrupación inversa.
 5. Aloanticuerpos inesperados que reaccionan a temperatura ambiente como anti-P o anti-M, pueden aglutinar los eritrocitos usados en las pruebas con suero si portan el correspondiente antígeno, para ver el tipo correcto de ABO de un suero que contenga otros aloanticuerpos fríos realizar:
 - a) Elevar la temperatura a 30-37 °C antes de mezclar el suero y las células, si la temperatura del aloanticuerpo es inferior a la cual reaccionan anti-A y anti-B, esto puede resolver la discrepancia.

Eritrocitos revestidos por anticuerpo

Los eritrocitos de lactantes con EHRN, o adultos que padecen de afecciones autoinmunes o aloinmunes, pueden estar tan intensamente revestidos de moléculas de anticuerpos IgG como para aglutinarse en forma espontánea en presencia de diluyentes de reactivos que contengan altas concentraciones de proteínas.

Se puede usar una elusión suave a 45 °C o con glicina a pH ácido, para eliminar gran parte de este anticuerpo de los eritrocitos de modo que se pueda someter a prueba en forma confiable con anti-A y anti-B.


Los eritrocitos de una muestra que contenga autoaglutininas IgM reactivas con el frío pueden aglutinar en forma espontánea en pruebas de solución salina. Por lo común, los anticuerpos pueden ser eliminados incubando la suspensión celular a 37 °C y luego lavando varias veces con solución salina calentada a 37 °C. Si la aglutinación relacionada con IgM no es eliminada por esta técnica, los eritrocitos pueden ser tratados con sulfhidrilo ditiotreitól (DTT).

Resolución de discrepancias debidas a reacciones séricas inesperadas⁸

Algunos acontecimientos pueden ocasionar resultados inesperados o erróneos de pruebas en suero, que pueden ser resueltos.

Referencias

1. Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. Blood Transfusion in Clinical Medicine. Tenth edition. London, UK: Blackwell Science; 1997. p. 115-185.
2. Race RR, Sanger R. Los grupos sanguíneos humanos. Segunda edición. México: La Prensa Médica Mexicana; 1995. p. 271-294.

3. Branch DR. Technical Manual, American Association of Blood Banks. Twelfth edition. Bethesda, Maryland: AABB Pub; 1996. p. 271-294.
4. Schenkel-Brunner. Human Blood Groups. New York: Ed. Springer-Verlag Wesn; 1995. p. 47-177.
5. Radillo-González. Medicina Transfusional. México: Editorial Prado; 1999. p. 73-96.
6. Castillo R, Mazzara R, Mrtorell J. Inmunohematología y transfusión sanguínea en hematología clínica. Cap. 40. En: Sans-Sabrafen, Besses RJC, Vives CJL. Hematología Clínica. Cuarta edición. Barcelona, España: Grafos B; 2001. p. 726-753.
7. Rodríguez-Moyado H, Quintanar-García E, Mejía-Arregui MH. El Banco de Sangre y la Medicina Transfusional. México: Editorial Médica Panamericana; 2004. p. 45-60.
8. Ruiz-Argüelles G, Velásquez-Ferrari MA, Lomeli-Guerrero A. Fundamentos de Hematología. Tercera edición México: Panamericana; 2003. p. 437-445. 

Araceli Nieto Rodríguez.
Discrepancias en el
grupo sanguíneo ABO

