



Método Abreviado Para Pruebas cruzadas

Cristian Steven Jimenez Pereira

Jonathan Alexander Osorio Acosta

UNIVERSIDAD ECCI

FACULTAD DE INGENIERÍA

DIRECCIÓN DE INGENIERÍA BIOMÉDICA

PROGRAMA DE TECNOLOGÍA EN MANTENIMIENTO DE EQUIPOS

BIOMÉDICOS

BOGOTÁ, D.C.

2023

Método Abreviado Para Pruebas cruzadas

Cristian Steven Jimenez Pereira

Jonathan Alexander Osorio Acosta

Trabajo de investigación presentado como requisito para optar al título de: Tecnología en
Mantenimiento de Equipos Biomédicos

Directora:

MSc. BLc. Verónica Lara Quintero

UNIVERSIDAD ECCI

FACULTAD DE INGENIERÍA

DIRECCIÓN DE INGENIERÍA BIOMÉDICA

PROGRAMA DE TECNOLOGÍA EN MANTENIMIENTO DE EQUIPOS

BIOMÉDICOS

BOGOTÁ, D.C.

2023

Contenido

	Pág.
Resumen	7
Introducción	8
1. Planteamiento del Problema	10
1.1 Descripción del problema	10
1.2 Formulación del problema	11
2. Justificación	12
2.1 Aspectos Teórico	12
2.2 Aspectos Metodológicos	13
2.3 Aspectos prácticos	14
3 Objetivos	16
4 Estado del arte	17
5 Marco Teórico	19
5.1 Marco Normativo	22
6 Metodología	25
7 Resultados	27
8 Conclusiones	49
Referencias	51

Lista de figuras

	Pág.
<p>Figura 1. Hemociencia. [@hemociencia]. (2020, agosto 12). El objetivo de las pruebas cruzadas es evidenciar la compatibilidad in vitro donante receptor [Descripción visual de Facebook] de https://m.facebook.com/story.php?story_fbid=pfbid0w2J5f6eqxWAvB6QRHBrYAGgQZiFGh6vsq5qNKoi2yFgLK9yTdydW48bz15a3K4dkl&id=110176870593359&mibextid=Nif5oz</p>	22
<p>Figura 2. Diagrama de flujo de proceso de selección de artículos. Autores</p>	27
<p>Figura 3. Sistemas de grupos sanguíneos. (2010, noviembre 02). Recuperado de https://silo.tips/download/anticorpos-antigenos-imunologia-sistemas-de-grupos-sanguineos-tipos-de-anticorpo</p>	28
<p>Figura 4: Hemociencia. [@hemociencia]. (2020, septiembre 02). La reacción Ag-Ac es una reacción reversible [Descripción visual de Facebook] de https://m.facebook.com/story.php?story_fbid=pfbid0mNhiAdPezN4Q4jK7u1b3CTGhwtyJ2CWnQLqpqB9Wrx24o58fHMbZETRe2raiXgWZl&id=110176870593359&mibextid=Nif5oz</p>	29
<p>Figura 5. Diagrama de flujo de una prueba cruzada con el método universal. Autores</p>	30
<p>Figura 6. [Sistema ABO]. (s.f). Recuperado de https://enfermeriacreativa.com/2019/07/24/sistema-ab0-yrh/</p>	31
<p>Figura 7. Hemociencia. [@hemociencia]. (2020, agosto 27). Los antígenos (Ags) son estructuras de la membrana eritrocitaria (proteínas, glúcidos, lípidos o combinaciones de ellos) con capacidad inmunológica: capaces de desencadenar una respuesta inmune. [Descripción visual de Facebook] de https://m.facebook.com/story.php?story_fbid=pfbid02FPXjXvLZGtFoRcnxysYyNCNifcesDuFvm7PTXzwwfmCUZHW2h7t7EqAfwJshoZGel&id=110176870593359&mibextid=Nif5oz</p>	32
<p>Figura 8. [Cloruro de sodio, NaCl estructura Molecular]. (s.f). Recuperado de https://www.istockphoto.com/es/vector/cloruro-de-sodio-nacl-estructura-molecular-gm519343330-90482853</p>	32

Figura 9. Hemociencia. [@hemociencia]. (2020, septiembre 04). Todos los hematíes son portadores de carga (-) y esto hace que se repelan entre ellos. [Descripción visual de Facebook] de https://m.facebook.com/story.php?story_fbid=pfbid0ib56BSk7AaEyZZwfFgsa2QaKmTUWwi74pi2dY6ResgGEmPWJNEqmgvZY6M7bMPNx1&id=110176870593359&mibextid=Nif5oz

33

Figura 10. Diagrama de flujo de una prueba cruzada con el EDTA como método abreviado.

Autores

35

Figura 11. [Volumetrías complejos]. (2019, octubre 4). Recuperado de https://fcb.web1.unl.edu.ar/laboratorios/ladaq/wp-content/uploads/2019/10/4-Volumetrias_Complejos-2019.pdf

36

Figura 12. [Nitrato de plata]. (s.f). Recuperado de <https://www.ocompra.com/colombia/item/nitrato-de-plata-industrial-al-99-0-x-100-gr-619423261/>

36

Figura 13. [Fuerza de cohesión y de Adhesión]. (s.f). Recuperado de <https://quizizz.com/admin/quiz/5f24d3b0000686001b0d6a26/fuerzas-de-adhesion-y-cohesion>

38

Figura 14. Diagrama de flujo de una prueba cruzada con el método de Nitrato de Plata. Autores.

40

Figura 15. [Información de la Zeolita]. (s.f). Recuperado de <https://www.casapia.com/informaciones-relacionadas-con-la-salud/17586-informacion-de-la-zeolita.html>

41

Figura 16. Hemociencia. [@hemociencia]. (2020, septiembre 04). Todos los hematíes son portadores de carga (-) y esto hace que se repelan entre ellos. [Descripción visual de Facebook] de https://m.facebook.com/story.php?story_fbid=pfbid0ib56BSk7AaEyZZwfFgsa2QaKmTUWwi74pi2dY6ResgGEmPWJNEqmgvZY6M7bMPNx1&id=110176870593359&mibextid=Nif5oz

42

Figura 17. Diagrama de flujo de una prueba cruzada con el método de zeolitas. Autores

44

Figura 18. Hemociencia. [@hemociencia]. (2020, septiembre 02). La reacción Ag-Ac es una reacción reversible [Descripción visual de Facebook] de https://m.facebook.com/story.php?story_fbid=pfbid0mNhiAdPezN4Q4jK7u1b3CTGhwtyJ2CWnQLppqB9Wrx24o58fHMbZETRe2raiXgWZl&id=110176870593359&mibextid=Nif5oz

45

Figura 19. Enfermedad de las aglutininas frías. (s.f.) Recuperado de https://fr.wikipedia.org/wiki/Maladie_des_agglutinines_froides

46

Figura 20. Diagrama de flujo de una prueba cruzada con el método de Crioaglutininas.

Autores.

47

Lista de tablas**Pág.**

Tabla 1: Estrategias de búsqueda utilizadas para la identificación de artículos en bases de datos. Autores	25
Tabla 2: Tabla comparativa de los métodos abreviados con el método estándar en función del tiempo. Autores	48

Resumen

Esta investigación se fundamenta en encontrar el proceso mediante el cual se reduzca el tiempo de realizar una prueba cruzada para compatibilidad sanguínea, reconociendo lo indispensable que es dar respuesta en un ámbito hospitalario a las pruebas de compatibilidad en un tiempo casi inmediato, cuando se debe realizar por una urgencia vital. Se reconocieron algunas variables como los tiempos de centrifugación y de incubación que podrían permitir la optimización del tiempo de respuesta, con el fin de implementar los resultados de lo que será un nuevo proceso para realizar pruebas pre-transfusionales en Colombia (Higuíta-Gutierrez et al., 2019)

Palabras clave: sangre, transfusión y compatibilidad

Abstract

This research is based on finding the process by which the time to perform a crossmatch for blood failure is reduced, recognizing how essential it is to respond in a hospital environment to compatibility tests in an almost immediate time, when it should be performed. for a vital emergency. Some variables were recognized, such as centrifugation and incubation times that could allow the optimization of the response time, in order to implement the results of what will be a new process to perform pre-transfusion tests in Colombia.

Keywords: blood, transfusion and compatibility

Introducción

Esta investigación es de tipo exploratoria ya que se pretende abordar un tema poco conocido, explorado o emergente, y puede ayudar a identificar problemas clave, definir conceptos y establecer hipótesis iniciales sobre la disminución de tiempos de procesamiento en las pruebas cruzadas dado que la sangre humana es la única fuente de eritrocitos plaquetas y plasma, e incluye los factores de la coagulación.

La transfusión es una forma simple de trasplante de órgano ya que se transfiere de un donante a un paciente, para corregir temporalmente una deficiencia o alteración de una función. En 1628 es descubierta la circulación sanguínea por William Harvey y a su vez en unos cuantos años Richard Lower realiza la primera transfusión sanguínea en 1666 realizada en animales. Pero la primera transfusión sanguínea en seres humanos se realizó el 15 de junio de 1667 por el médico francés Jean Baptiste Danys, partiendo de esta manera una nueva era en la medicina. En los inicios de 1800 se desarrolló la transfusión humana a humano. Sin embargo, fue hasta 1900 cuando Landsteiner describe el grupo ABO, con lo que iniciaría la era moderna en la transfusión y ya para 1914 se introduce el uso del citrato como medio de conservación (Marrón-Peña, 2017).

Desde 1933 hasta 1947, John Lundy establece los elementos y la generación del primer Banco de Sangre, con la finalidad de dotar rápidamente las demandas de hemoderivados en los servicios de cirugía en la Clínica Mayo. Para 1950 se crea lo que fue la bolsa de plástico propia para conservar la sangre; en 1967 se descubre la inmunoglobulina y en 1985, se elabora el primer casete de prueba rápida para detección de VIH.[1] Es menester resaltar la notable lucha del hombre por lograr métodos cada vez más

precisos, eficaces y eficientes para lograr la integralidad de una transfusión sanguínea con sus “pruebas cruzadas” (Presidencia de la República de Colombia, 1993), que en Colombia según el decreto 1571 de 1993 emitido por la Presidencia de la Republica definen como el procedimiento del laboratorio realizado por los bancos de sangre o servicios de transfusión, mediante el cual se pone en contacto suero del receptor con glóbulos rojos del donante, con el objeto de determinar su compatibilidad. Se realiza este tipo de pruebas para asegurar que:

- No hay incompatibilidad ABO entre el paciente y los glóbulos rojos (GR) a transfundir.
- No hay otros anticuerpos irregulares que puedan causar una reacción transfusional hemolítica o un acortamiento de la vida media de las células transfundidas. (Aburto Almonacid, 2016)

Pero es desde la era moderna de las transfusiones sanguíneas en 1990 hasta la era actual, que se empezaron a ver avances significativos en cuanto a este tema, como tecnologías para examinar las células rojas dirigidas a los pacientes con enfermedades que requieren transfusiones frecuentes, como por ejemplo la anemia de células falciformes.

Estos pacientes a veces desarrollan anticuerpos que complican la búsqueda de sangre compatible para una transfusión. Otras investigaciones alentadoras también están mejorando tecnologías, que significativamente reducirán cualquier bacteria, virus y parásito que podría estar en la sangre y finalmente la creación de prototipos de sangre artificial transportadora de oxígeno. (Arrunátegui et al., 2022)

1. Planteamiento del Problema

Para el año 2020, aún en países tan avanzados como Estados Unidos, cada dos segundos alguien necesita de una transfusión sanguínea; son personas de todas las edades que sufren una lesión vital, necesitan cirugía o que sufren de alguna enfermedad. [2] Cifra que para Colombia no es indiferente, ya que vivimos en un país con extrema violencia y se requiere disponer de las unidades de sangre suficientes para atender la demanda. Según cifras de la Cruz Roja en Colombia durante el año 2021 se realizaron más de 1.000 transfusiones en pacientes a diario para un total de 370.000 personas (Cruz Roja Colombiana, 2023) esto teniendo en cuenta la disminución presentada por el confinamiento debido a la pandemia por el Covid 19, ya que por ejemplo, para el año 2019 solo en Bogotá se fueron transfundidos 359.721 componentes sanguíneos utilizados en cerca de 80.000 pacientes. (Clúster de Salud de Bogotá, 2020)

1.1 Descripción del problema

En este trabajo se busca optimizar el tiempo de realización de una prueba cruzada teniendo en cuenta el escenario de tener que transfundir un paciente en el servicio de cirugía o de urgencias en un momento en el que de esto dependa su vida. Como se enunció antes, actualmente el proceso se tarda cerca de cuarenta minutos a una hora según la experticia del profesional, así como la disponibilidad y el tipo de reactivos (Cortés Buelvas & Roja Colombiana Seccional Valle, 1997a). Siendo este un tiempo muy ineficiente si lo que se requiere es proteger al paciente de una reacción alérgica severa (reacción anafiláctica), una hemólisis cardiovascular, un rash o sensibilización entre otras reacciones, adjuntando a esto el peor de los escenarios que es la muerte y que basado en el Artículo 46 del decreto 1571

de 1993 emitido por La Presidencia de la República que nos dice: “ En todo procedimiento de transfusión de sangre total o cualquier componente que contenga eritrocitos, es obligatorio realizar previamente las pruebas de compatibilidad correspondientes definidas en el Manual de Normas Técnicas y Procedimientos que expida el Ministerio de Salud. (Presidencia de la República de Colombia, 1993)

1.2 Formulación del problema

De acuerdo a lo expuesto con anterioridad, se formula para este proyecto de grado la siguiente pregunta: ¿Es posible reducir el tiempo de ejecución de una Prueba Cruzada?

2. Justificación

Este proyecto busca optimizar el tiempo para realizar una prueba cruzada con un método abreviado para la misma teniendo en cuenta la necesidad de dar respuesta en un tiempo casi inmediato a una prueba cruzada. De acuerdo al poco estudio que se le ha dado al tema y por las cifras estadísticas como las reportadas por el Instituto Nacional de Salud de Colombia que notifica lo siguiente:

- En cuanto a la Reacción Adversa Transfusional (RAT), se notificaron 1.460 RAT en 2020 (17,6% menos que en 2019), de las cuales 1.254 (85,9%) tuvieron imputabilidad definitiva (340), probable (496) o posible (418)
- Al igual que en otros años, las RAT alérgicas, febriles no hemolíticas y la sobrecarga circulatoria asociada a la transfusión constituyeron el 87% de los eventos informados. (García-Otálora & Bermúdez-Forero, 2020)

2.1 Aspectos Teóricos

Una transfusión sanguínea es un procedimiento durante el cual se administra sangre o componentes de la sangre (plasma, plaquetas, crioprecipitados, etc.) directamente en el torrente sanguíneo del paciente a través de una vena previamente canalizada. Se administra sangre donada por otra persona y se almacena para usar cuando se necesite. También se llama hemotransfusión, transfusión y transfusión sanguínea. Antes de iniciarla es necesario realizar las pruebas de compatibilidad sanguínea o pruebas cruzadas para de esta manera proporcionar al paciente la máxima seguridad. (Cortés et al., 2004)

La mayoría de las transfusiones son seguras y exitosas. Sin embargo, en ocasiones pueden producirse reacciones, tales como: fiebre, reacciones anafilácticas severas,

sobrecarga de líquidos, lesión pulmonar, destrucción de los glóbulos rojos (eritrocitos) debido a una falta de coincidencia del grupo sanguíneo entre donante y receptor, enfermedad del injerto contra el huésped (en la que las células transfundidas atacan las células de la persona que recibe una transfusión), infecciones, complicaciones de una transfusión masiva (mala coagulación de la sangre, temperatura corporal baja y concentraciones bajas de calcio y de potasio), sensibilización en mujeres en edad fértil, complicando así una gestación, multitud de anticuerpos en pacientes politransfundidos, dificultando así otra posible transfusión y aumentando el riesgo de una reacción adversa, hemólisis intravascular e incluso la muerte.(Zamudio-Godínez, 2003)

2.2 Aspectos Metodológicos

Como primera medida se declaró la necesidad de conocer un tiempo de oportunidad que indique cual es el tiempo real de una prueba cruzada en el escenario de tener que dar respuesta casi inmediata de una compatibilidad sanguínea en los casos en los que es necesario realizar una transfusión de emergencia, por tanto se implementó una ecuación para conocer el índice de productividad en manera porcentual [Ecuación 1], tomando como ejemplo común, el tener que transfundir 2 unidades de sangre en una emergencia vital a un paciente en un promedio de 2 a 5 minutos máximo, teniendo en cuenta que esta cantidad en un caso real puede ser mayor.

$$Productividad = \frac{Tiempo Real}{Tiempo Disponible} \times \frac{Unidades Cruzadas}{Unidades Planificadas}$$

$$Productividad = \frac{40 \text{ min.}}{5 \text{ min}} \times \frac{0}{2}$$

$$Productividad = 0\%$$

Ecuación 1-Índice de productividad para pruebas cruzadas con el método estándar

En este punto se puede determinar lo complejo que es tratar de minimizar los tiempos en las pruebas cruzadas, donde el mayor aporte lo tiene el proceso de incubación y el proceso de centrifugación; donde este último, según estudios previos no es una opción que gire a más de 3500 revoluciones por minuto (rpm) debido a la pérdida de la calidad de la muestra sanguínea provocando hemólisis por el rompimiento de glóbulos rojos. Para la incubación, se pueden utilizar diferentes sustancias que aceleran y modifican la reacción antígeno-anticuerpo como albúmina humana, albúmina bovina, albúmina bovina polimerizada a 19%, 22% y 30%, como también el uso de enzimas como la bromelina, fisina, papaína y tripsina, adicionalmente la solución de baja fuerza iónica (LISS), columnas de gel, polietilenglicol (PEG) y polibreno, entre otros.(Sub Red Integrada de Servicios de Salud Sur, 2022)

2.3 Aspectos prácticos

A través de la investigación realizada se plantea una hipótesis que va dirigida hacia el siguiente macroproceso para realizar una prueba cruzada como lo es la incubación, esta permite una reacción química por la unión del suero del receptor con los eritrocitos del

donante que generará aglutinación y/o hemolisis en el caso de incompatibilidad o ausencia de estos en caso contrario. Posterior a esto, utilizando el quelante ácido Etilendiaminotetraacético (EDTA), la sal inorgánica Nitrato de plata, minerales aluminosilicatos microporosos como las zeolitas protonadas y por último crioaglutininas se plantea que el proceso convencional reduzca su tiempo de incubación de 15 minutos aproximadamente dependiendo del reactivo, a un tiempo mucho menor. Esto sigue siendo incógnita hasta iniciar los procesos de experimentación y posteriormente asegurar la calidad de la muestra y con esto protocolizar un método abreviado para la parte de la incubación de las pruebas cruzadas. (García & Ardila, 2009)

3.Objetivos

3.1 Objetivo general

- Comparar varios procedimientos a nivel teórico con el método universal que permitan reducir el tiempo para realizar una prueba cruzada.

3.2 Objetivos específicos

- Identificar las características del procedimiento estándar para la ejecución de pruebas cruzadas.
- Reconocer las variables críticas que pueden disminuir el tiempo de reacción en las pruebas cruzadas.
- Plantear varios procedimientos abreviados que se realicen en un menor tiempo en comparación con el procedimiento estándar de las pruebas cruzadas.

4. Estado del arte

Las primeras investigaciones realizadas en función de disminuir el tiempo en pruebas cruzadas datan en el año 1962 por Lorela Eterline de Fajardo y Luis F. Fajardo, como se evidencia en su publicación en la revista de la facultad de medicina del banco de sangre del hospital San Juan de Dios de Bogotá. Quienes determinaron un método abreviado para pruebas cruzadas que consiste en mezclar una gota de sangre del donante, con 1mL de cloruro de sodio al 0.85%; de esta suspensión, se agregó una gota a un tubo marcado como “S”, y una gota a un tubo marcado como “A”. A el tubo “S”, se le agregaron dos gotas de suero o plasma del receptor y se incubó por 5 minutos a temperatura ambiente. En el tubo “A”, se agregaron dos gotas de suero o plasma del receptor y tres gotas de albúmina bovina al 30% y se incubó a 37°C en baño serológico. Finalmente, se resuspendieron los eritrocitos y se utilizó una gota de cada tubo sobre una lámina portaobjetos para ser leída en el microscopio; en ausencia de aglutinación y hemólisis se consideraron compatibles. (Eterline-de Fajardo & Fajardo, 1962)

Este procedimiento se hizo llevando a cabo 4766 transfusiones en 4 meses, de las cuales se presentaron 8 casos de reacciones adversas. Se obtuvo un método corto (de 6 a 10 minutos) requiriendo poco material, obteniendo una reacción transfusional del 0.36% por debajo de lo esperado 5%, sin tener en cuenta que posteriormente al tiempo de prueba se presentan reacciones adversas silenciosas como la sensibilización de mujeres en edad fértil, y la multiplicidad de anticuerpos en personas politransfundidos que dificultan una próxima transfusión aumentando las posibilidades de un efecto adverso (Eterline-de Fajardo & Fajardo, 1962)

En España, en 2002, se publica en el Temario de materias específicas, en su edición de Técnico Especialista en Laboratorio clínico del servicio gallego de salud, un proceso alternativo para una prueba cruzada inmediata por centrifugación. En esta investigación se destacan autores como María del Carmen Silva y María José García, que plantean un método a partir de la centrifugación conjunta de las muestras de sangre. Para la muestra del donante se utilizaron eritrocitos, y para la muestra del receptor el suero sanguíneo. Se mezclaron en una fórmula de 2 gotas de suero del receptor, por dos de la suspensión de eritrocitos, y se llevaron a centrifugar, para determinar la compatibilidad del sistema ABO. Si no se observa hemólisis, ni aglutinación el resultado es compatible. (Silva & García, 2002)

Existen algunos autores que piensan que es una alternativa aceptable a la prueba cruzada mayor, ya que está apenas detecta anticuerpos irregulares no identificados ya al efectuar el estudio correspondiente. Otros autores piensan que es una forma de ganar tiempo cuando se necesita una prueba de compatibilidad urgente porque la vida del paciente corre peligro, aunque no es un sustituto real de la prueba cruzada mayor. (Silva & García, 2002)

5. Marco Teórico

Para la fácil interpretación de este trabajo es necesario definir varios conceptos primordiales como lo es la sangre y sus componentes. La sangre se define como un tejido conectivo líquido, que circula por capilares, venas y arterias de todos los vertebrados. Su color rojo característico es debido a la presencia del pigmento hemoglobínico contenido en los glóbulos rojos. Tiene una matriz coloidal líquida y una constitución compleja con una fase sólida (elementos formes), que incluye a los eritrocitos (o glóbulos rojos), los leucocitos (o glóbulos blancos) y las plaquetas y una fase líquida, representada por el plasma sanguíneo. Estas fases son también llamadas partes sanguíneas, las cuales se dividen en componente sérico (fase líquida) y componente celular (fase sólida). Su función principal es la logística de distribución e integración sistémica, cuya contención en los vasos sanguíneos (espacio vascular) admite su distribución (circulación sanguínea) hacia prácticamente todo el organismo. (Sandoval-Triguero, 2015)

Entre estos componentes cabe destacar, la importancia de marcadores como la hemoglobina y hematocrito; que en la mayoría de las veces es el determinante principal, para transfundir o no a un paciente, siendo el hematocrito el que mide la cantidad de sangre compuesta por glóbulos rojos y la hemoglobina que transporta oxígeno de los pulmones al resto del cuerpo. Sus valores normales, para el hematocrito son de 41% -53% en hombres y 35% -46% en mujeres, y para la hemoglobina 13,5 g/dL -17,5 g/dL en hombres y 12 g/dL -16 g/dL en mujeres, cualquier valor por debajo de estos es motivo de estudio y posible motivo de transfusión (Sandoval-Triguero, 2015). A partir de esto, se define lo que es una transfusión sanguínea como un procedimiento médico de rutina, en el cual el paciente recibe sangre donada por medio de un tubo estrecho colocado en una vena del brazo. Este

procedimiento que puede salvar vidas ayuda a reemplazar la sangre que se pierde a causa de una cirugía o de una lesión. La transfusión de sangre también puede ser útil cuando una enfermedad impide que el cuerpo produzca sangre, o algunos de los componentes sanguíneos de forma adecuada (Marquez-Rodríguez & Jaime Oviedo López, 2021). Las transfusiones se efectúan para aumentar la capacidad de la sangre para transportar oxígeno, restaurar el volumen de sangre del cuerpo y corregir problemas de la coagulación. Las transfusiones generalmente son inocuas, pero a veces las personas afectadas presentan reacciones adversas. La mayoría de las transfusiones son seguras y exitosas. Sin embargo, en ocasiones pueden producirse reacciones, tales como:

- Destrucción de los glóbulos rojos (eritrocitos) debido a una falta de coincidencia del grupo sanguíneo entre donante y receptor.
- Enfermedad del injerto contra el huésped (en la que las células transfundidas atacan las células de la persona que recibe una transfusión).
- Infecciones.
- Complicaciones de una transfusión masiva (mala coagulación de la sangre, temperatura corporal baja y concentraciones bajas de calcio y de potasio).
- Sensibilización en mujeres en edad fértil, complicando así una gestación.
- Multiplicidad de anticuerpos en pacientes politransfundidos, dificultando así otra posible transfusión y aumentando el riesgo de una reacción adversa e incluso la muerte.

Para minimizar el riesgo de una reacción adversa durante la transfusión, se realizan una serie de pruebas pre-transfusionales, generalmente unos pocos días u horas antes, la

sangre del paciente se coteja con la del donante (excepto en el caso de transfusiones de plasma o plaquetas); esto se denomina como pruebas cruzadas y búsqueda de anticuerpos. Su función es que los antígenos y anticuerpos puedan ser detectados y estudiados en el laboratorio; nos ayudan a prevenir la transfusión de sangre incompatible, y proveen al paciente de máxima seguridad y beneficio (Bernaes, n.d.). Esto se realiza comparando la sangre del donante con la del receptor y de esta manera comprobar si es o no compatible, verificando presencia de aglutinación y/o hemólisis en el caso de incompatibilidad o ausencia de estos en el caso contrario, como se muestra en la figura 1:

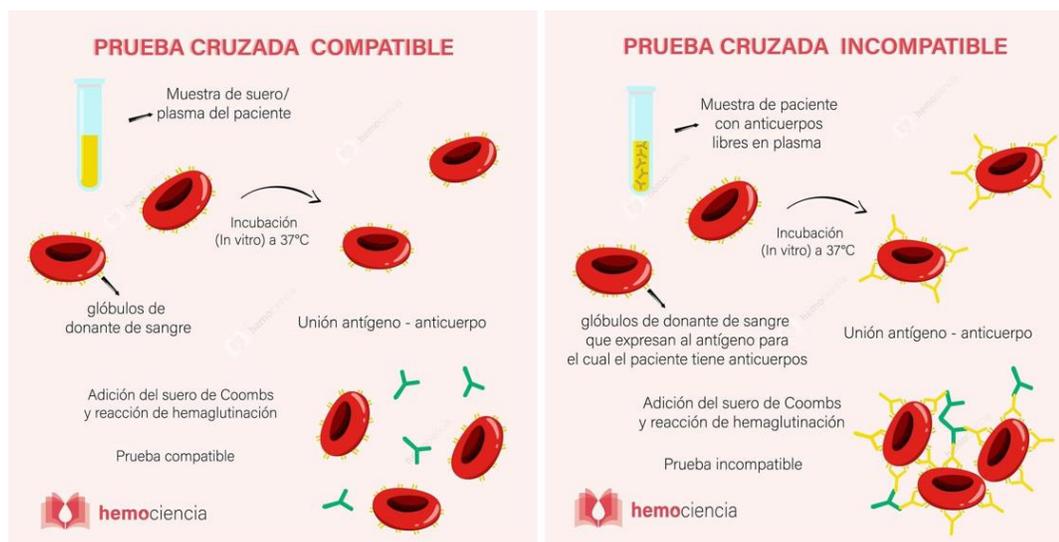


Figura 1: Interpretación de pruebas cruzadas

En este proceso de pruebas cruzadas se identificaron dos variables importantes, que son modificables como lo son la centrifugación, que dura 12 minutos a 3500 rpm, y la incubación que tarda 15 minutos. Por ende, esta investigación se encaminó a la variable de la incubación, ya que como se observó en métodos anteriores los procesos de centrifugación como método abreviado de pruebas cruzadas no son muy seguros. (Silva & García, 2002)

Cabe mencionar que la sangre y sus hemoderivados son recolectados en unas unidades de plástico diseñadas especialmente para la conservación, transporte y almacenamiento de la sangre, esta contiene aproximadamente 300 cc de sangre, para el caso puntual de las unidades contenedoras de glóbulos rojos pobres en leucocitos que son las que se tendrán en cuenta en este proyecto.(Secretaría Distrital de Salud Bogotá, 2021)

La forma redonda de la bolsa minimiza el desperdicio de sangre durante la transferencia y la transfusión, y las cómodas hendiduras y orificios para colgar no solo facilitan la extracción de sangre y la transfusión, sino que permiten una fácil suspensión de la bolsa en posición vertical. La superficie interna de las bolsas se trata para garantizar que la sangre no se coagule y para evitar la contaminación.

5.1 Marco normativo

Para esta investigación se tuvo en cuenta la base normativa colombiana iniciando con el Decreto 1571 de 1993 emitido por La Presidencia de la República, enunciando en los siguientes apartes como el Artículo 14, Artículo 23, Artículo 45, Artículo 46, Artículo 48 y dando vital acentuación al Artículo 47 que en su apartado se refiere (Presidencia de la República de Colombia, 1993): “En caso de extrema urgencia o emergencia, que ponga en peligro la vida de una persona y no exista la posibilidad de cumplir en forma oportuna lo prescrito en este Decreto, respecto de la obligatoriedad de la práctica de pruebas para la detección de infecciones transmitidas por transfusión sanguínea o las pruebas pre-transfusionales de compatibilidad previstas en el presente capítulo, podrán practicarse por el médico tratante procedimientos de transfusión sanguínea, siempre y cuando se haya advertido los riesgos existentes y se haya obtenido el consentimiento escrito del enfermo o

sus responsables, cuando sea posible. En tales casos se procederá según las normas técnicas determinadas por el Ministerio de Salud” (Sic).

Consecuente con esto, se aprueba que el profesional médico tenga las facultades científicas y legales para determinar cuándo una transfusión sanguínea debe realizarse de forma inmediata sin preceder a esto pruebas cruzadas por el tiempo prolongado de respuesta ya que prima la vida del paciente. Pero cuando hablamos de reacciones transfusionales severas como una respuesta anafiláctica severa, hemólisis cardiovascular e incluso la muerte se hace necesario contar obligatoriamente con un método abreviado para pruebas cruzadas que sea igual de eficaz y seguro, pero en un tiempo mucho más corto. (Resolución 3212 de 2018, 2018)

En contexto con lo anterior se cita la resolución 901 de 1996 emitida por El Ministerio de Salud Pública en su capítulo 5, unidad 3 que refiere (Resolución 0901 de 1996, 1996): Prueba para rastreo de anticuerpos irregulares o inesperados: “Se deberá realizar en los donantes la investigación de anticuerpos séricos irregulares empleando métodos que demuestran anticuerpos clínicamente significativos. Esta determinación solamente podrá ser obviada sistemáticamente si se realiza la prueba de compatibilidad transfusional menor, cuando se transfunde sangre total o plasma. Las unidades de sangre que contengan tales anticuerpos deberán ser procesadas en componentes que contengan sólo mínimas cantidades de plasma.” (Sic), refutando nuevamente la importancia y la obligatoriedad de realizar las pruebas cruzadas pre-transfusionales.

Teniendo en consideración la política nacional de sangre del año 2007 se cita el enunciado 4.4.3 de seguridad, dónde indica que: "Los bancos de sangre y servicios de

transfusión sanguínea dispondrán de mecanismos que permitan garantizar el mejoramiento continuo de la calidad de los productos sanguíneos, con un nivel profesional óptimo para disminuir los riesgos asociados a la transfusión" (Ministerio de Protección Social, 2006). Por esto se dispuso que todo banco de sangre y dependientes del mismo, tendrán la responsabilidad de revisar el sistema de gestión de calidad y realizar acciones para conservar la calidad de los componentes sanguíneos y satisfacción a usuarios y beneficiarios. Además de determinar mecanismos basados en evidencia científica que permita minimizar y disminuir los riesgos adversos de la transfusión.

6. Metodología

Para esta investigación de tipo exploratoria sistémica se realizó una revisión exhaustiva de la parte bibliográfica utilizando palabras clave en términos MeSH y DeSC, se vincularon con operadores booleanos (y, o, no – and, or, not) y se realizaron búsquedas de acuerdo con estos criterios implementando ecuaciones de búsqueda, tal y como se muestra en la figura 2:

BASE DE DATOS	ESTRATEGIA DE BUSQUEDA	RESULTADOS OBTENIDOS
Google Scholar	"blood" and "transfusion" and "compatibility"	7.390
	"blood" and "transfusion" or "compatibility"	7.390
	"sangre" y "transfusión" y "comtabilidad"	58
	"blood" and "NACL" and "EDTA"	7.180
	"blood" and "silver nitrate"	8.230
	"blood" and "NACL" and "zeolite"	1.130
	"blood" and "cold agglutinin"	1.730
PubMed	"blood" and "transfusion" and "compatibility"	847
	"blood" and "transfusion" or "compatibility"	198.640
	"blood" and "NACL" and "EDTA"	151
	"blood" and "silver nitrate"	499
	"blood" and "NACL" and "zeolite"	1
	"blood" and "cold agglutinin"	566
Nature	"blood" and "transfusion" and "compatibility"	414
	"blood" and "transfusion" or "compatibility"	410
	"blood" and "NACL" and "EDTA"	16.391
	"blood" and "silver nitrate"	845
	"blood" and "NACL" and "zeolite"	11
	"blood" and "cold agglutinin"	91
Cochrane	"blood" and "transfusion" and "compatibility"	6
	"blood" and "transfusion" or "compatibility"	362
	"blood" and "NACL" and "EDTA"	14
	"blood" and "silver nitrate"	12
	"blood" and "NACL" and "zeolite"	0
	"blood" and "cold agglutinin"	31

Tabla 1: Estrategias de búsqueda utilizadas para la identificación de artículos en bases de datos

Posteriormente estos criterios se implementaron en motores de búsqueda como Google Académico, PubMed, Nature, y Cochrane. Finalmente se utilizaron filtros que permitieran delimitar y discriminar lo más relevante y con mayor aporte al proyecto, como se muestra en la figura 3:

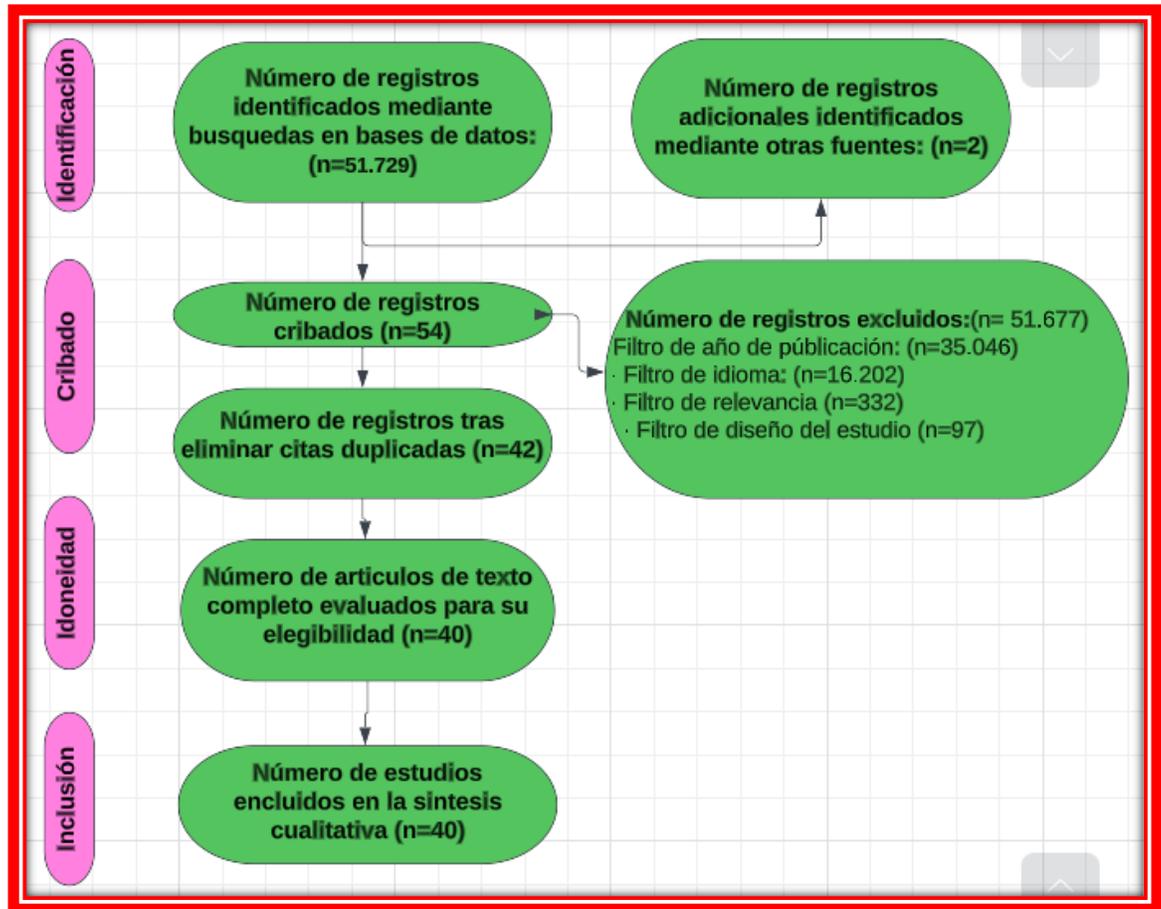


Figura 2: Diagrama de flujo de proceso de selección de artículos

7. Resultados

Como primera medida en esta investigación buscamos optimizar el proceso de aglutinación y/o hemólisis disminuyendo el potencial Z (describe la intensidad del campo eléctrico estático de la capa doble en el límite entre el grano y el fluido). Siendo este primero un agregado de células o bacterias debido a una formación entrelazada. La hemólisis, se define como el proceso mediante el cual los glóbulos rojos (eritrocitos) se rompen o se destruyen, liberando su contenido, incluyendo la hemoglobina, en el medio rojo (Hernández-Traid, 2010).

El potencial Z depende de las membranas de los glóbulos rojos, que tiene adheridos en su exterior dos capas de Na^+ y consiguiente una capa de Cl^- , impidiendo la aglutinación rápida entre antígenos y anticuerpos, como se muestra en la figura 2:

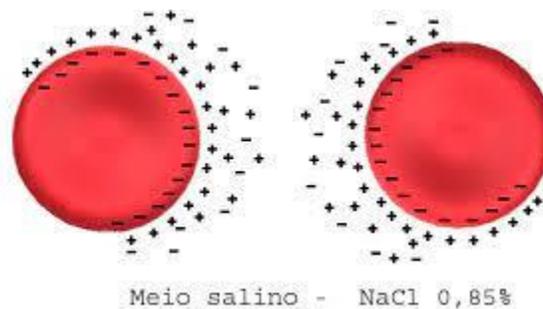


Figura 3. Medio salino del líquido intersticial de los glóbulos rojos

Para esto debemos lograr aumentar la temperatura de una forma más rápida a 37°C en baño serológico, temperatura a la que reaccionan los anticuerpos IgG, para aumentar la sensibilización del glóbulo rojo y disminuir la carga eléctrica del mismo y de esta manera disminuir el tiempo de aglutinación (Tapia, 2013), como se muestra en la figura 3:

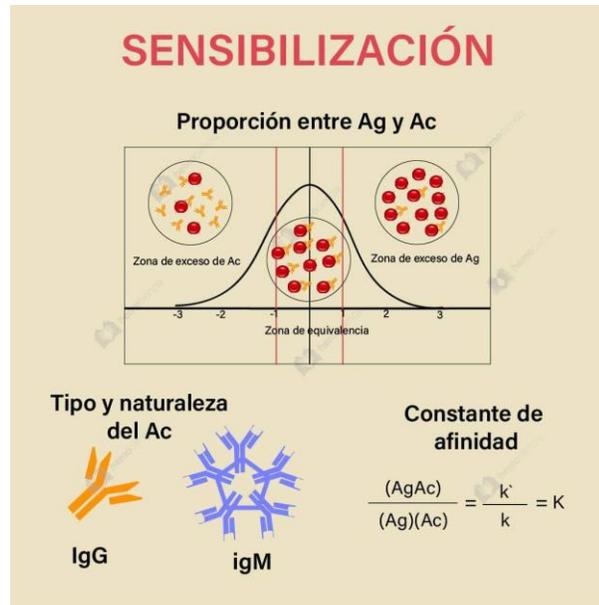


Figura 4: Grafica de apertura de canales de sensibilización de los glóbulos rojos

Es importante denotar la importancia de delimitar el procedimiento actual para realizar pruebas cruzadas, este proceso está estandarizado y unificado de tal manera que es universal, cabe resaltar que existen entidades con servicios de bancos de sangre y servicios transfusionales que utilizan métodos un poco más automatizados que minimizan un poco el factor del error utilizando casetes o microtubos con Gel Neutro, Específico o Antiglobulina, pero que estos métodos varían en función del tiempo dependiendo la casa comercial que los diseñe siendo el aproximado de 45 minutos. Es importante denotar que este método abreviado para pruebas cruzadas estará basado en el método universal, ya que los enunciados anteriormente no son utilizados por todas las entidades ya sea por presupuesto o por preferencia (Manual Técnico de Hemovigilancia En Bancos de Sangre de Medicina Transfusional, 2004). El método estándar se lleva a cabo de acuerdo a la figura 4:

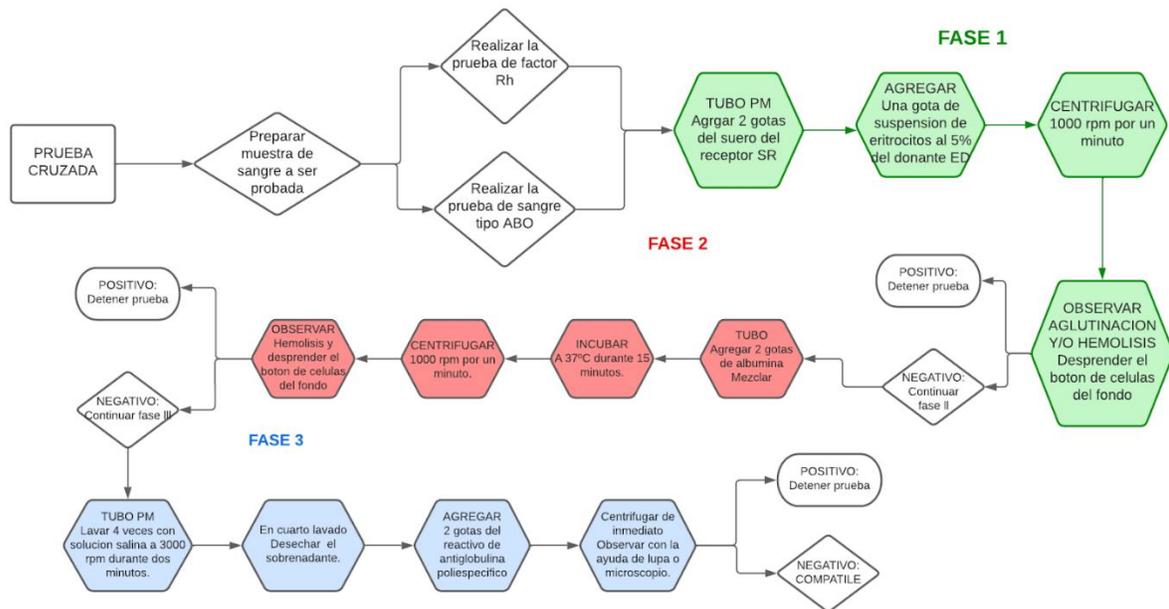


Figura 5. Diagrama de flujo de una Prueba Cruzada con el método universal - Autores

En este escenario definimos aglutinación como el suceso que ocurre cuando las aglutininas se unen a dos eritrocitos a la vez, lo que hace que éstos se agrupen o aglutinen. Además de la aglutinación, la unión aglutinina-aglutinógeno produce hemólisis por lesión de la membrana celular del eritrocito (Fernández-Garza, 2015), provocando el rompimiento de los glóbulos rojos, tal como se muestra en la figura 5:

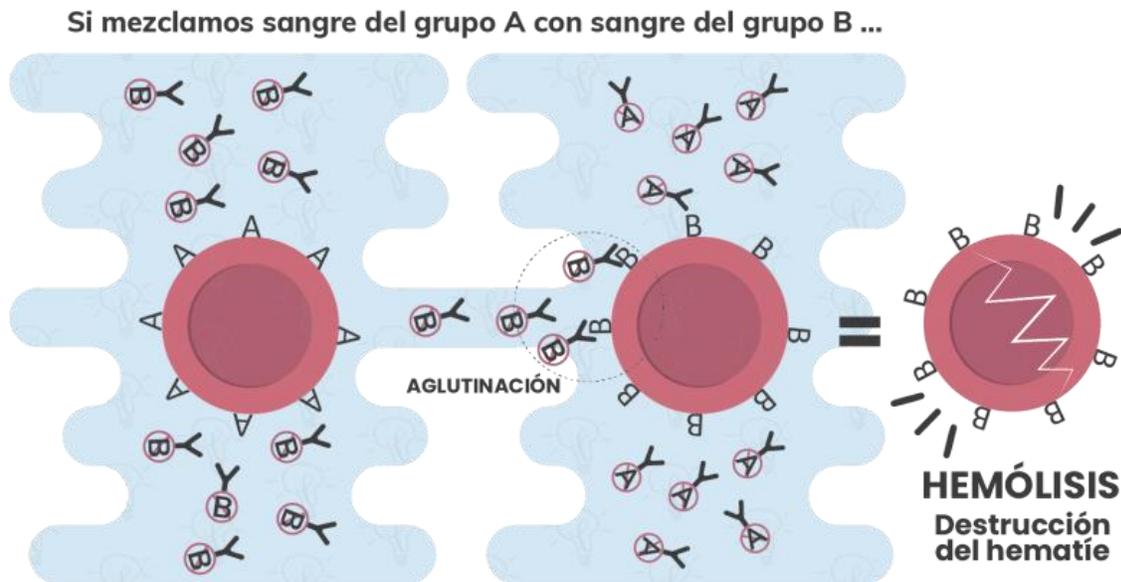


Figura 6. Aglutinación y Hemólisis

Es importante destacar que la aglutinación y la hemólisis son procesos independientes, aunque pueden estar relacionados en algunos casos. Por ejemplo, en una reacción transfusional incompatible, la aglutinación de los glóbulos rojos puede desencadenar una respuesta inmunológica que lleva a la destrucción de los glóbulos rojos y, por lo tanto, a la hemólisis. Sin embargo, es posible tener aglutinación sin hemólisis y viceversa, dependiendo de los factores involucrados en cada caso específico. (Pan American Health Organization., 2012)

En un proceso normal el tiempo de aglutinación es de 15 minutos, abriendo los canales de sensibilización, el siguiente paso es aumentar la fuerza de cohesión de los glóbulos rojos, restando o inhibiendo cargas eléctricas, de tal manera que se presente un acercamiento estrecho entre epítipo y paratopo, dando paso a la aglutinación total, como se muestra en la figura 6:

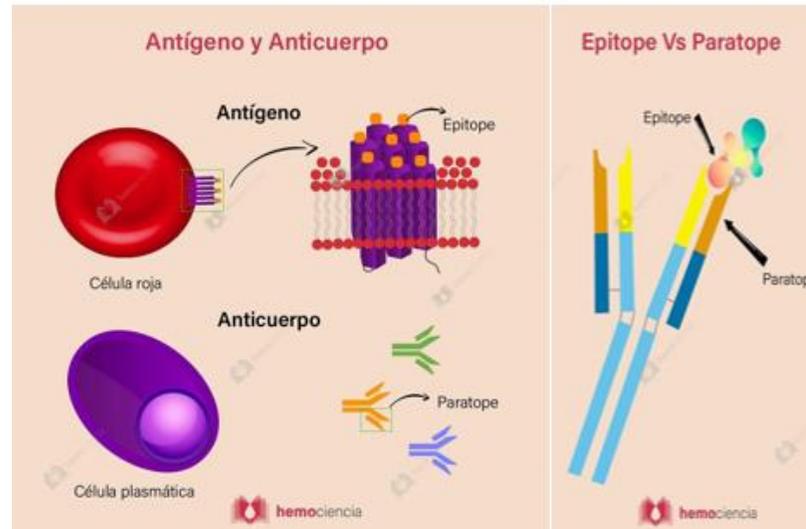


Figura 7. Unión entre epítipo y paratopo

El plasma que es el líquido entre los glóbulos rojos y es concentrado en Cloruro de sodio (NaCl), pero por la mayor concentración de Na^+ unido en el exterior del glóbulo rojo, retrae a los demás glóbulos ya que son ambas cargas positivas (Motoche, 2015). La solución a este problema radica como hipótesis en la inclusión de iones de cloro a este líquido externo, igualando el número de iones de Na^+ para que se adhieran unos a otros y así tener una concentración únicamente de NaCl sin Na^+ libres como se muestra en la figura 7:

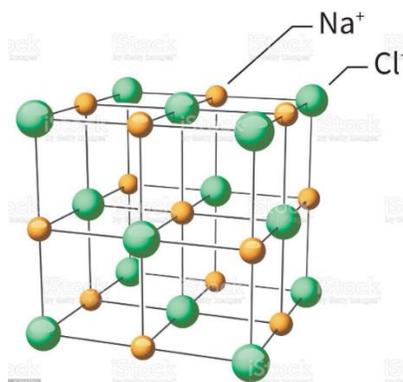


Figura 8. Estructura molecular del cloruro de sodio.

De esta manera la nueva molécula tendrá una estructura molecular cúbica, siendo así quelado por el aditivo Ácido Etilendiaminotetraacético (EDTA). Que se encargará de inhibir el cloruro de sodio (NaCl), dando paso a la aglutinación y/o hemólisis rápida de los glóbulos rojos (Hernández-Traid, 2010). La fuerza de repulsión de un glóbulo rojo depende del potencial Z, representado en la figura 8:



Figura 9. Potencial Z

$$Potencial Z = YDU$$

D = Constante dieléctrica del medio

Y = Fuerza iónica del medio de suspensión

U = Carga eléctrica del glóbulo rojo

La cantidad de EDTA (ácido Etilendiaminotetraacético) necesaria para quelar 40 milimoles de sodio depende de la relación molar entre el EDTA y el sodio en la reacción de quelación.

El EDTA es un ligando que forma complejos quelatos con iones metálicos como el sodio. La relación molar necesaria para quelar completamente el sodio puede ser determinada a partir de la estequiometría de la reacción de quelación.

La fórmula química del EDTA es $C_{10}H_{16}N_2O_8$, lo que indica que una molécula de EDTA puede formar un complejo quelato con un catión metálico divalente (como el sodio Na^+). El EDTA tiene una masa molar de aproximadamente 292,24 g/mol.

Para calcular la cantidad de EDTA necesaria para quelar 40 milimoles de sodio, necesitamos conocer la relación molar de EDTA a sodio en la reacción. Si asumimos que se requiere una molécula de EDTA por cada mol de sodio quelado, entonces necesitaríamos 40 milimoles de EDTA, que corresponden a 40×10^{-3} moles o $40 \times 10^{-3} \times 292,24$ g de EDTA.

El cálculo sería el siguiente: Cantidad de EDTA = 40×10^{-3} moles \times 292,24 g/mol = 11,69 g de EDTA.

Por lo tanto, se necesitarían aproximadamente 11,69 gramos de EDTA para quelar 40 milimoles de sodio, asumiendo una relación molar de 1:1 entre el EDTA y el sodio en la reacción de quelación.

De este modo se estandariza el nuevo proceso de realizar pruebas cruzadas, siendo este un método abreviado del proceso universal. Utilizando el EDTA como quelante del

Na^+Cl^- y de este modo optimizar el proceso convencional en 12 minutos aproximadamente como se muestra en la figura 9:

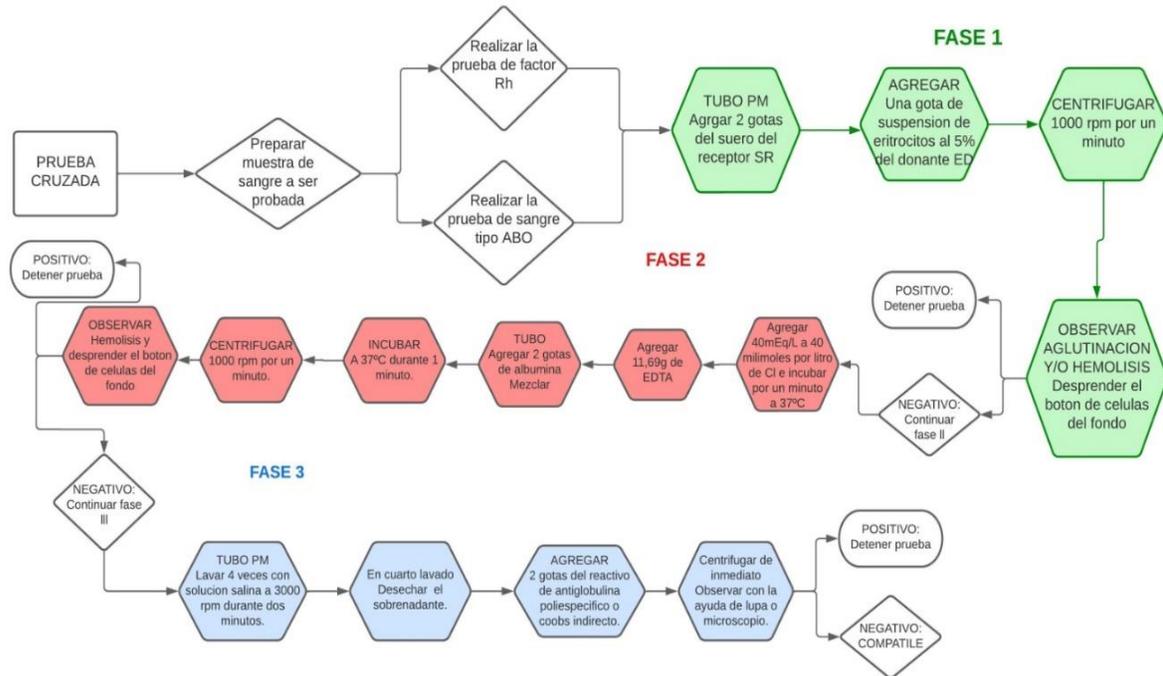


Figura 10. Diagrama de flujo de una Prueba Cruzada con el EDTA como método abreviado - Autores

Investigando un poco sobre las propiedades del EDTA, se encuentra que realmente es muy poco, casi nulo el efecto que este tiene sobre estos iones ya que tiene una selectividad exclusiva de iones según su pH. En otras palabras, la determinación de utilizar EDTA como quelante del Na^+Cl^- para inhibir las cargas eléctricas de los iones de sodio y cloro que incluyen este, no es posible debido a que esta quela óptimamente dentro de un estrecho margen de pH, dentro del cual se destacan el pH de la sangre y de los líquidos tisulares, más no por los iones de Cl^- y Na^+ contenidos en los glóbulos rojos ya que estos no se encuentran en su rango de acción, tal como se muestra en la figura 10:

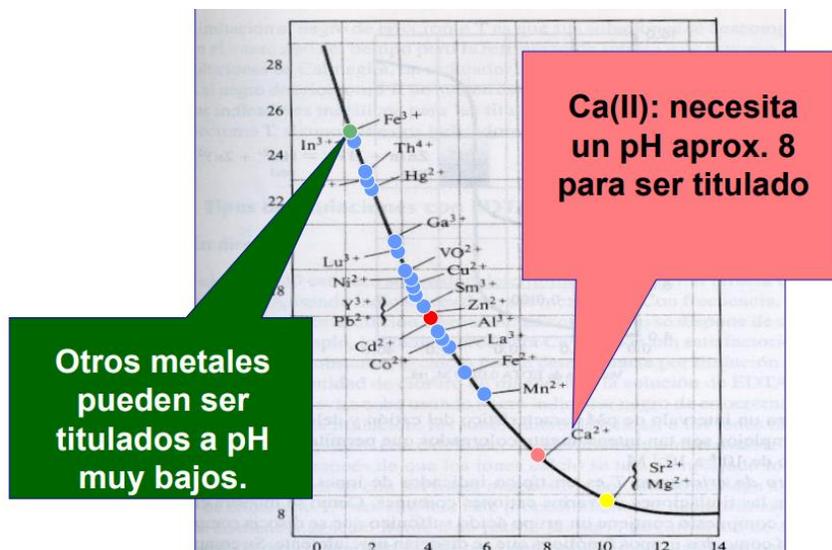


Figura 11. Gráfica de selectividad de iones del EDTA según su pH.

Buscando la posibilidad de inhibir estas cargas del medio intersticial externo de los glóbulos rojos para poder aumentar la fuerza de cohesión entre los mismos y permitir un acercamiento más estrecho entre epítopo y paratopo, se encontró la utilidad de otro compuesto como el nitrato de plata, que es una sal inorgánica mixta y un compuesto muy utilizado para detectar la presencia de cloruro en otras soluciones y que se encuentra en pequeños cristales blanquecinos como se muestra en la figura 11:



Figura 12. Nitrato de plata

De este modo se tendrá una solución próxima para inhibir cargas eléctricas del cloro, quedando como incógnita si se conserva la calidad y seguridad de la muestra y que por la interacción de estos compuestos con la sangre y sus componentes, no se presenten falsos positivos o en su defecto falsos negativos, la siguiente interrogante se traduce en la posible reacción química por la unión de estos dos compuestos, tales como una posible toxicidad al punto de ser perjudicial para el profesional de la salud que en su momento tuviese que manipular los reactivos, u otras que aún no estén tipificadas en este documento. El siguiente inconveniente al querer utilizar el nitrato de plata como quelante del cloro, es el alto costo del mismo, costo que tendría que ser asumido por las instituciones prestadoras del servicio de salud. (Phatak et al., n.d.)

Una vez inhibidas las cargas eléctricas del cloro, no sería necesario la inclusión de iones adicionales de este para igualar los iones de Sodio como se describió inicialmente, ya que inhibiendo las cargas eléctricas del cloro se aumenta la fuerza de cohesión de los glóbulos rojos, de este modo se evitará un paso adicional disminuyendo el tiempo de ejecución de la prueba cruzada que es la intención de este método abreviado, no sin antes declarar la necesidad de llevar esta hipótesis a la parte práctica en un futuro próximo para corroborar los detalles anteriormente mencionados y de este modo llenar al paciente de máxima seguridad, fiabilidad y eficacia (Boniche-González, 2022). La fuerza de cohesión depende a su vez de la fuerza de adhesión como se muestra en la figura 12:

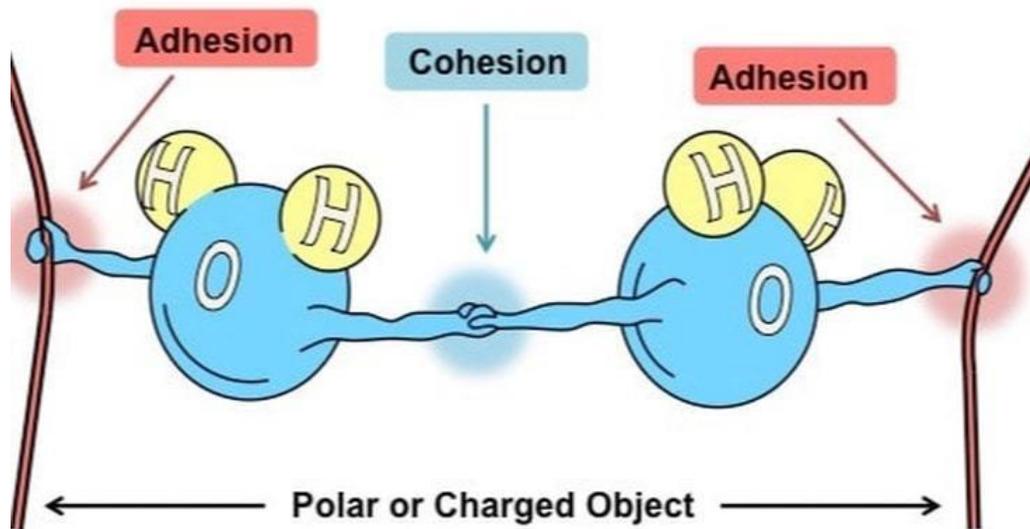


Figura 13. Fuerza de cohesión y de Adhesión

Es de denotar que el cloro está presente en la sangre en una relación de 96 mM (milimoles por L) a 106 mM La cantidad de nitrato de plata necesaria para capturar 0.05 milimoles por L (mM) de cloro producido de la reacción química específica que se está llevando a cabo y de la estequiometria de la misma.

Por ejemplo, si se quiere llevar a cabo la titulación de una muestra que contiene 0.05 mM de cloro con nitrato de plata (AgNO_3) en una relación 1:1 (un mol de AgNO_3 por mol de cloro), se usará agregar 0.05 mM de AgNO_3 a la muestra para reaccionar completamente con todo el cloro presente. Esto teniendo en cuenta que una gota equivale aproximadamente a 0.25 mM y se utilizaran dos gotas de suero del receptor.

La masa molar del cloro es de 35,45 g/mol y la del nitrato de plata es de 169,87 g/mol. Por lo tanto, para preparar 0.05 mM de AgNO_3 , se necesitarán:

- $0.05 \text{ mM} \times 169,87 \text{ g/mol} = 8.5 \text{ g/L}$ de AgNO_3

En resumen, para capturar 0.05 mM de cloro con una relación 1:1 con nitrato de plata, se necesitan 8.5 g/L de nitrato de plata en la solución de titulación. Es importante tener en cuenta que la cantidad de nitrato de plata necesaria puede variar dependiendo de la reacción química específica que se esté llevando a cabo.

El tiempo requerido para que el nitrato de plata absorba el cloro varía según las condiciones de reacción. Por ejemplo, en la reacción del nitrato de plata para oxidar el cloro en presencia de luz, la reacción puede ser muy rápida y completa en segundos o minutos. En otras condiciones, la reacción puede ser más lenta y puede tardar horas o incluso días en completarse. El punto final de la titulación está determinado por un indicador que cambia de color cuando se agrega suficiente nitrato de plata para reaccionar completamente con el cloro.

De este modo se estandariza el nuevo proceso de realizar pruebas cruzadas, siendo este un método abreviado del proceso universal, utilizando el Nitrato de Plata como inhibidor de las cargas eléctricas del Cl^- y de este modo optimizar el proceso convencional en 12 minutos aproximadamente tal como se muestra en la figura 13:

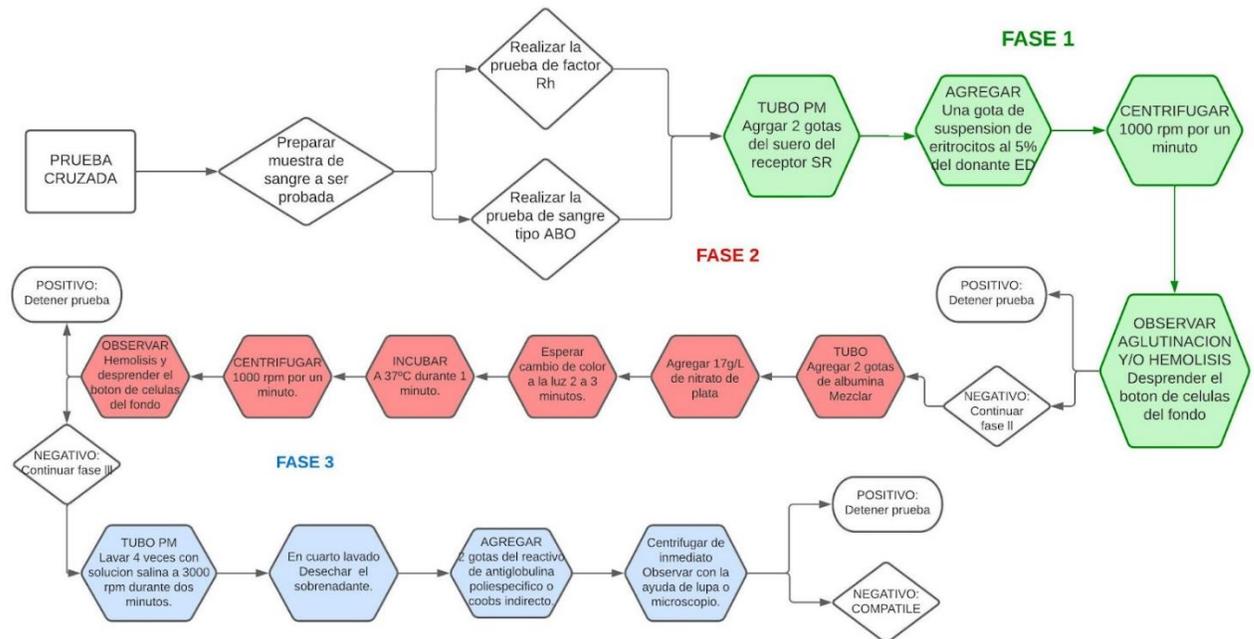


Figura 14. Diagrama de flujo de una Prueba Cruzada con el método Nitrato de Plata -

Autores

Como tercera prueba incluimos el uso de zeolitas como parte del proceso de aglutinación después del proceso de incubación, que a grosso modo son minerales aluminosilicatos microporosos que tienen la capacidad de hidratarse y deshidratarse de un modo reversible y que por ende tiene un efecto sobre el Na^+Cl^- al absorberlo de manera casi total, para esto es necesario utilizar zeolitas de tipo protonada o amoniacal que por sus propiedades facilitan el proceso. La siguiente incógnita que surge en la inclusión de zeolitas de este tipo al líquido intersticial externo de los glóbulos rojos es saber si al absorber el Na^+Cl^- las cargas positivas de los iones también disminuyen, ya que este lo hace de manera selectiva, lo que sí es seguro es que reducirá su concentración en esta solución. (Serati-Nouri et al., 2020)

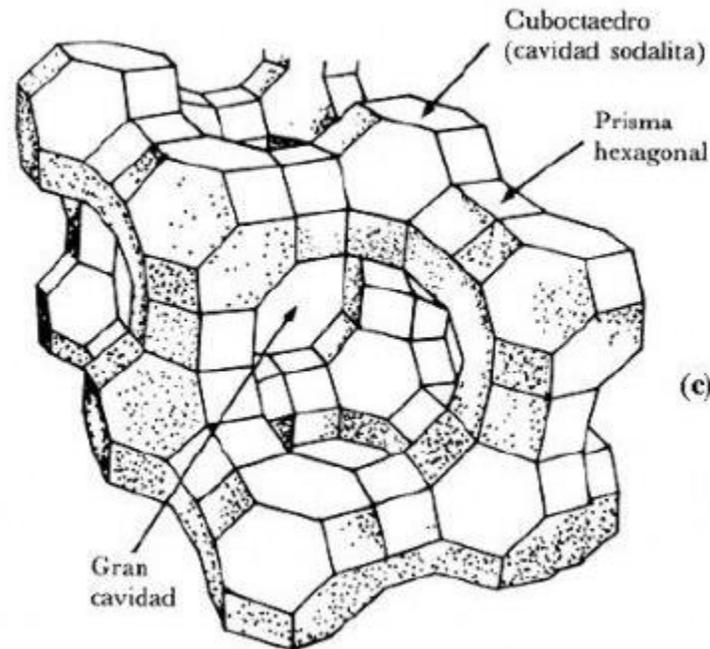


Figura 15. Estructura molecular de una Zeolita

Las zeolitas actúan como intercambiadores de iones, lo que significa que pueden intercambiar iones presentes en su estructura con iones de la solución circundante, quedando como incógnita si los iones intercambiados son útiles o por lo menos de cargas negativas para que favorezca la fuerza de cohesión entre glóbulos rojos y llegar de esta manera a un proceso de aglutinación y/o hemólisis cuando la prueba cruzada no es compatible o ausencia de estos en el caso contrario.

Cabe resaltar que para este proceso si es necesario la inclusión de iones de cloro para igualar los de sodio, ya que las zeolitas actúan sobre el Na^+Cl^- como tal, quedando así por comprobar la seguridad y calidad de la muestra. Es necesario incluir 40 mEq/L de Cl^- y de este modo obtener una solución con 140 mEq/L de Na^+Cl^- , ya que como se enuncio anteriormente el líquido intersticial externo de los glóbulos rojos es más concentrado de

iones de Na^+ que de Cl^- (Cortés Buevas & Roja Colombiana Seccional Valle, 1997b), como se muestra en la figura 15:



Figura 16. Cargas iónicas del medio intersticial

Para determinar la cantidad de zeolita necesaria para absorber 140 mM/L de NaCl, se debe conocer la capacidad de intercambio iónico de la zeolita y la cantidad de NaCl en solución. Suponiendo una zeolita con una capacidad de intercambio iónico de 1 mEq/g (miliequivalentes por gramo), la cantidad necesaria de zeolita se puede calcular de la siguiente manera:

- $1 \text{ mEq. /g} = 1 \text{ mmol/g}$
- $140 \text{ mmol/L} = 140 \text{ mmol/L}$

Suponiendo que se tiene una solución de NaCl de 140 mM/L y quiere dividirse a la mitad (70 mM/L) usando zeolita. Suponiendo que se requiere una cantidad equivalente de zeolita por mol de NaCl adsorbido, se requieren las siguientes condiciones:

- $70 \text{ mmol/L} / 1 \text{ mmol/g} = 70 \text{ g/L}$ de zeolita

Para absorber NaCl 140 mM/L utilizando una zeolita con una capacidad de intercambio iónico de 1 mEq/g, aprox. 70 g/L de zeolita.

Es importante señalar que este cálculo es aproximado y que la cantidad de zeolita requerida puede variar según las condiciones específicas de disolución y las propiedades de la zeolita utilizada, que para este caso particular se utilizaran zeolitas protonadas o amoniacaes.

El intercambio iónico ocurriría reemplazando los iones de Na^+ por los iones de Hidrógeno, formando así el Ácido Clorhídrico (HCl) lo que sugiere que es necesario utilizar una solución buffer ya que el HCl tiene un efecto negativo en las zeolitas por su capacidad corrosiva, reduciendo así la capacidad de las zeolitas de intercambiar iones o absorber moléculas específicas si se expone a este durante un tiempo prolongado. Posteriormente debemos incubar por 1 minuto en baño serológico a 37°C .

De este modo se estandariza un nuevo proceso de realizar pruebas cruzadas, siendo este un método abreviado del proceso universal. Utilizando las Zeolitas como absorbente del Na^+Cl^- , permitiendo así, en teoría, inhibir las cargas eléctricas del medio intersticial externo de los glóbulos rojos, aumentando la fuerza de cohesión y permitiendo una aglutinación y/o hemólisis más rápida como se muestra en la figura 16:

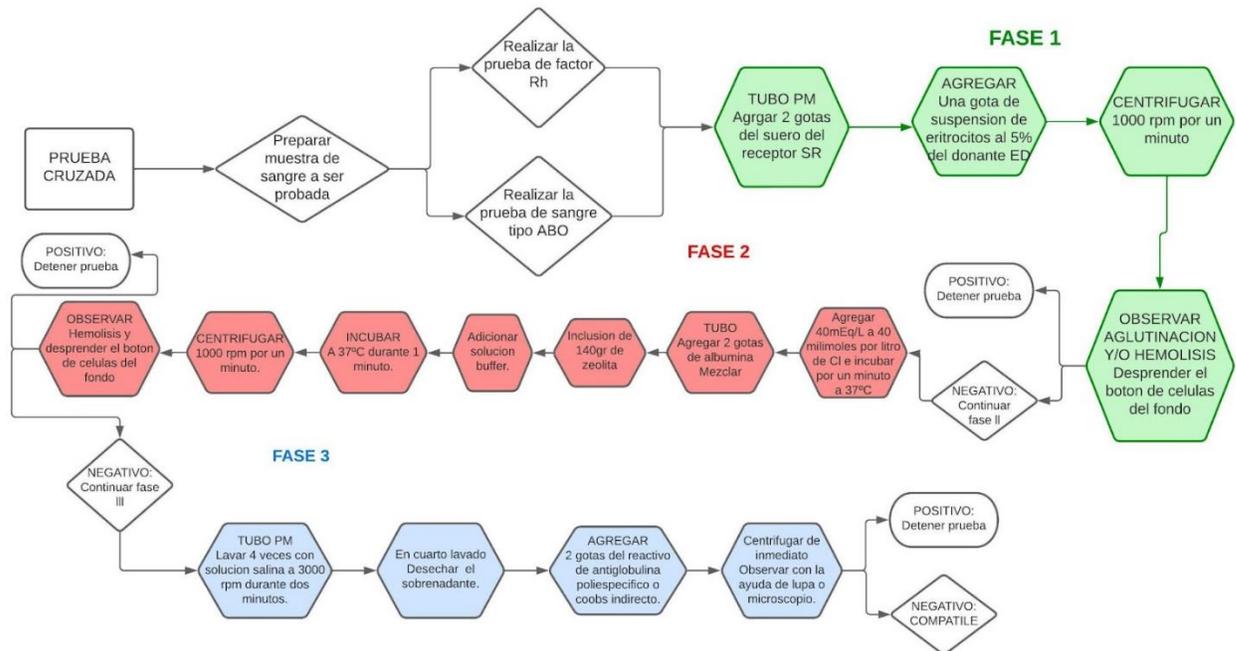


Figura 17. Diagrama de flujo de una Prueba Cruzada con el método Zeolitas - Autores

Como cuarta prueba se propone el uso de crioaglutininas que son anticuerpos que se unen a los glóbulos rojos a bajas temperaturas, provocando la aglutinación y destrucción de los glóbulos rojos, lo que obviaría en un proceso de pruebas cruzadas convencional el paso de la incubación para lograr que tanto la muestra del paciente como la muestra de donante lleguen a 37°C en baño serológico, pasando directamente con esto al proceso de aglutinación y/o hemólisis en caso de incompatibilidad o la ausencia de estos en el caso contrario (Gálvez-Cárdenas et al., 2021), siendo de esta manera reducido el tiempo en 20 minutos aproximadamente, verificando de manera práctica que se conserve el pH neutro de la muestra, como se muestra en la figura 17:

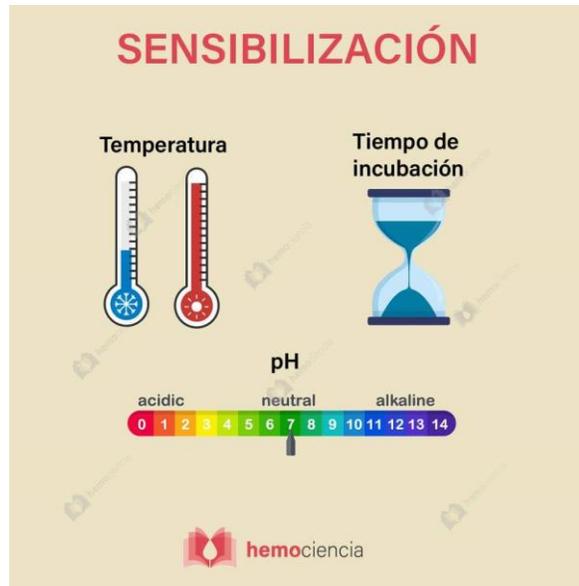


Figura 18. pH neutro para abrir canales de sensibilización.

La cantidad de crioaglutininas necesarias para aglutinar glóbulos rojos puede variar y depende de varios factores, pero en general, se requiere una cantidad significativa de crioaglutininas para producir aglutinación.

El sistema inmunitario de algunas personas produce naturalmente aglutininas frías, y éstas están asociadas con varias enfermedades autoinmunes y de la sangre. En cuanto a si se pueden producir aglutininas frías artificiales, la respuesta es sí, se pueden producir anticuerpos que se unen a los glóbulos rojos a bajas temperaturas.

El tiempo requerido para que las aglutininas frías se aglutinen depende de varios factores, como la temperatura a la que se colocan los glóbulos rojos y la concentración de aglutininas frías en la muestra. Generalmente, las crioaglutininas provocan la aglutinación de glóbulos rojos en el rango de temperatura de 0°C a 4°C (Aristizábal-Aristizábal & Domingo-Torres, 2007), como se muestra en la figura 18:

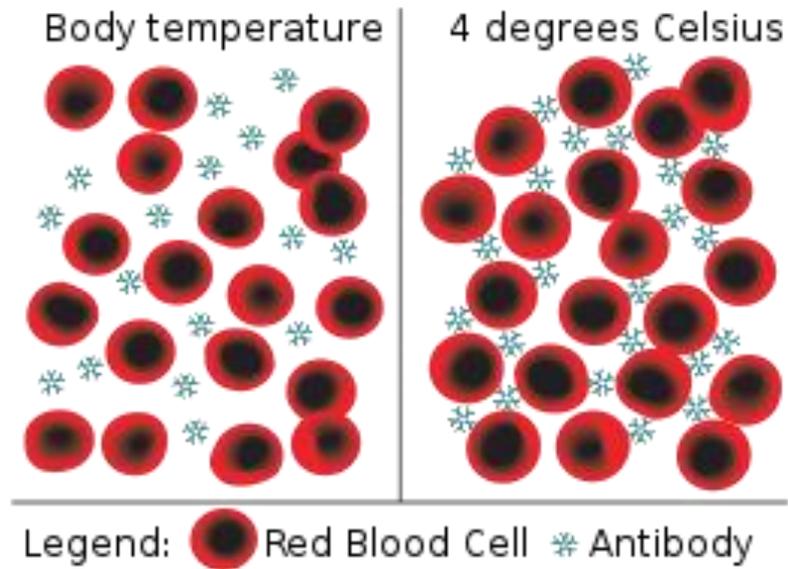


Figura 19. Modo de aglutinación de las crioaglutininas

De este modo se estandariza otro método para realizar pruebas cruzadas, siendo este un método abreviado del proceso universal. Utilizando las crioaglutininas como coadyuvante de la aglutinación rápida entre glóbulos rojos permitiendo una observación de hemólisis y/o aglutinación de una manera más rápida como se muestra en la figura 19:

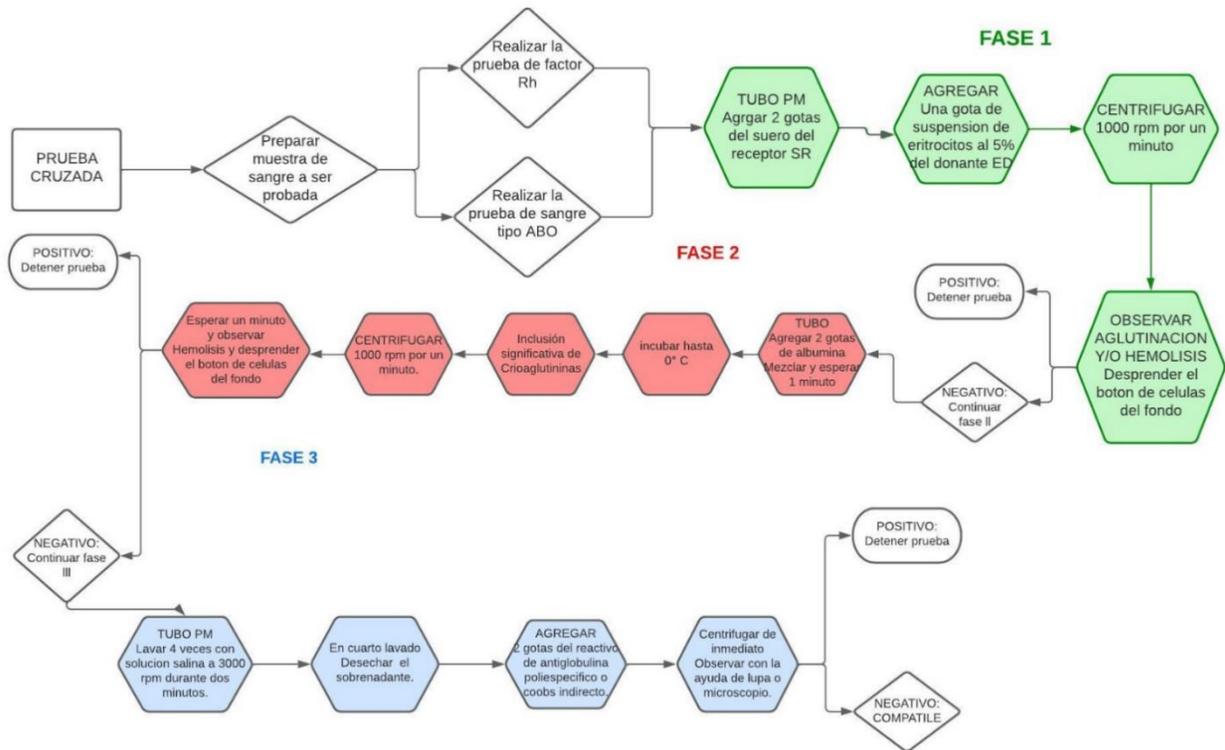


Figura 20. Diagrama de flujo de una Prueba Cruzada con el método Crioaglutininas -

Autores

Cabe destacar que ya se han desarrollado anticuerpos monoclonales con propiedades similares a las crioaglutininas que pueden ayudar en la investigación y diagnóstico de ciertas enfermedades. Sin embargo, la producción de crioaglutininas artificiales específicas y funcionales para uso terapéutico es un área activa de investigación y se deben superar varios desafíos técnicos. Por ejemplo, es necesario identificar antígenos específicos que se unen a las crioaglutininas, desarrollar estrategias para la producción masiva de crioaglutininas y evaluar cuidadosamente los efectos secundarios y la seguridad de las crioaglutininas artificiales antes de usarlas en humanos. Consecuente a esto, aunque

es posible fabricar crioaglutininas artificiales, su producción para terapia es un área activa de investigación y se deben superar varios desafíos técnicos antes del uso clínico.

No obstante, como las pruebas cruzadas se realizan *in vitro* y no en pacientes humanos directamente, esto es un factor que nos indica que solo es necesario corroborar si la calidad de la muestra se mantiene para asegurar de este modo la confiabilidad de los resultados y seguridad del paciente, y esto se realiza utilizando controles tanto positivos como negativos de pruebas cruzadas hechas con anterioridad por el método convencional. Cabe resaltar que lo consiguiente es delimitar el tamaño de la muestra para realizar dichos controles de tal manera que sean confiables los resultados obtenidos. (Luna Falcón, 2022)

Utilizando el método estándar para realizar una prueba cruzada como base de ejecución de este proyecto se logró obtener mediante el análisis bibliográfico cuatro métodos abreviados de la misma, que son comparables en función del tiempo con el método estándar, proponiendo con cada método una optimización significativa tal como se muestra en la tabla 1:

METODO	PROCESO																				TIEMPO TOTAL	
	Distinción de grupo ABO y factor RH	Mezcla del suero del receptor con los glóbulos rojos del donante	Centrifugar a 1000 rpm/ 1 min.	Observar aglutinación y/o hemólisis	INCLUSIÓN DE IONES DE CLORO	AGREGAR 11,69 g de EDTA	AGREGAR ALBUMINA	INCUBAR HASTA 0°C	INCLUSIÓN NITRATO DE PLATA	ESPERAR 3 MINUTOS POR CAMBIO DE COLOR	INCLUSIÓN DE ZEOLITAS	SOLUCIÓN BUFFER	INCLUSIÓN DE CRIOAGLUTININAS	INCUBAR A 37°C/ 15 MIN	INCUBAR A 37°C/ 1 MIN	Centrifugar a 1000 rpm/ 1 min.	Observar aglutinación y/o hemólisis	4 LAVADOS CON SOLUCIÓN SALINA, DESECHAR SOBRENADANTE AL FINAL	AGREGAR ANTIGLOBULINA ESPECÍFICO	Centrifugar a 1000 rpm/ 1 min.		Observar aglutinación y/o hemólisis
Metodo Universal	X	X	X	X	0	0	X	0	0	0	0	0	0	X	0	X	X	X	X	X	X	40 min - 60 min
Metodo abreviado (EDTA)	X	X	X	X	X	X	X	0	0	0	0	0	0	0	X	X	X	X	X	X	X	28 min - 48 min (Tiempo estimado)
Metodo abreviado (Nitrito de Plata)	X	X	X	X	0	0	X	0	X	X	0	0	0	0	X	X	X	X	X	X	X	29 min - 49 min (Tiempo estimado)
Metodo abreviado (Zeolitas)	X	X	X	X	X	0	X	0	0	0	X	X	0	0	X	X	X	X	X	X	X	26 min - 46 min (Tiempo estimado)
Metodo abreviado (Crioaglutininas)	X	X	X	X	0	0	X	X	0	0	0	0	X	0	0	X	X	X	X	X	X	25 min - 45 min (Tiempo estimado)

Tabla 2 - Tabla comparativa de los métodos abreviados con el método estándar en función del tiempo

Convenciones:
X = Aplica
O = No Aplica

8. Conclusiones

- Denotando las características intrínsecas de un procedimiento estándar para hacer pruebas cruzadas se logró determinar que el proceso si bien es muy efectivo es muy poco eficaz en términos de tiempo de respuesta cortos relacionados con los resultados requeridos para la decisión médica.
- En el desarrollo de esta investigación y su consulta bibliográfica se identificaron variables críticas que pueden modificarse en función del tiempo tales como la aglutinación y la incubación que corroborando la efectividad y calidad de la muestra representan una disminución significativa en el tiempo de respuesta.
- Una vez realizada la revisión bibliográfica para esta investigación, se plantearon cuatro métodos abreviados de la prueba cruzada estándar con la inclusión de distintos materiales que proporcionan en teoría una disminución significativa del tiempo.
- Esta investigación es valiosa como etapa inicial de un proyecto de investigación más amplio, ya que proporciona una visión general del tema y puede ayudar a delimitar el alcance y los objetivos de investigaciones posteriores, para llevar a la práctica lo que se logró delimitar mediante una revisión exhaustiva de la bibliografía.

- A. Anexo:** Manual de Inmunohematología - Subred Integrada de Servicios de Salud
Sur E.S.E. [24]

Referencias

- Aburto Almonacid, A. (2016). Instituto de Salud Pública. *Recomendaciones Para La Realización De Las Pruebas Cruzadas En Medicina Transfusional* .
<https://www.ispch.cl/sites/default/files/Recomendaciones%20para%20la%20realizaci%C3%B3n%20de%20las%20Pruebas%20Cruzadas%20en%20Medicina%20Transfusional..pdf>
- Aristizábal-Aristizábal, J.-M., & Domingo-Torres, J. (2007). Transfusiones en pacientes con pruebas de compatibilidad positivas y en aquellos con anemia hemolítica autoinmune. *IATREIA*, 20.
<http://www.scielo.org.co/pdf/iat/v20n4/v20n4a4.pdf>
- Arunátegui, A. M., Ramón, D. S., Viola, L. M., Olsen, L. G., & Jaramillo, A. (2022). Aspectos técnicos y clínicos de la prueba cruzada de histocompatibilidad en el trasplante de órganos sólidos. *Biomedica : Revista Del Instituto Nacional de Salud*, 42(2), 391–413.
<https://doi.org/10.7705/biomedica.6255>
- Bernales, L. A. (n.d.). *Prueba de Compatibilidad Pretransfusional*. Retrieved June 9, 2023, from <https://www.ispch.cl/sites/default/files/Clase%20Pruebas%20de%20Compatibilidad%20copia.pdf>
- Boniche-González, E. (2022). *Creación de un protocolo transfusional para el manejo transoperatorio de hemorragia masiva y coagulopatía en pacientes adultos víctimas de trauma*. [Universidad de Costa Rica].
<https://www.kerwa.ucr.ac.cr/bitstream/handle/10669/89182/Creaci%C3%B3n%20de%20un%20protocolo%20transfusional%20para%20el%20manejo%20transoperatorio%20de%20hemorragia%20masiva%20y%20coagulopat%C3%ADa%20en%20pacientes%20adultos%20v%C3%ADctimas%20de%20trauma..pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- Clúster de Salud de Bogotá. (2020). *A propósito del Día Mundial del Donante de Sangre, ¿Cuáles son las cifras en Colombia?*
- Cortés, A., Wedekin, W., & Bolaños, F. (2004). Reanimación con glóbulos rojos Rh positivo y sin prueba cruzada en emergencias médicas. In *Colomb Med* (Vol. 35).
<https://www.redalyc.org/pdf/283/28335404.pdf>
- Cortés Buelvas, A., & Roja Colombiana Seccional Valle, C. (1997a). *Medicina transfusional en situaciones de trauma* (Vol. 28). <https://www.redalyc.org/pdf/283/28328307.pdf>
- Cortés Buelvas, A., & Roja Colombiana Seccional Valle, C. (1997b). *Transfusional en situaciones de trauma. Parte I* (Vol. 28).
- Cruz Roja Colombiana. (2023). *Los donantes voluntarios de sangre salvan millones de personas al año* .
- Eterline-de Fajardo, L., & Fajardo, L. (1962). *METODO ABREVIADO PARA PRUEBA CRUZADA*.
<https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/35167/22571-77959-1-PB.PDF?sequence=1&isAllowed=y>

- Fernández-Garza, N.-E. (2015). Grupos Sanguíneos. In *Manual de Laboratorio de Fisiología* (Sexta). <https://accessmedicina.mhmedical.com/book.aspx?bookid=1722>
- Gálvez-Cárdenas, K. M., Morantes-Rubiano, J. F., & Lotero-Cadavid, A. F. (2021). Enfermedad por aglutininas frías: proceso diagnóstico, tratamiento y seguimiento de un paciente. *Medicina y Laboratorio*, 25(4), 735–742. <https://doi.org/10.36384/01232576.527>
- García, M., & Ardila, M. (2009). *La variación del volumen celular bajo diferentes concentraciones de solución salina (NaCl)*. <http://www.scielo.org.co/pdf/rca/v37n2/v37n2a02.pdf>
- García-Otálora, M. A., & Bermúdez-Forero, M. I. (2020). *INFORME PRELIMINAR SOBRE LAS REACCIONES ADVERSAS A LA DONACIÓN (RAD) Y A LA TRANSFUSIÓN (RAT) DURANTE 2020 INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. INS.*
- Hernández-Traid, J. M. (2010). *ESTUDIO DE LA ESTABILIDAD DE SUSPENSIONES DE Bi2Sr2CaCu2O8 (Bi2212) EN ETANOL*. <https://zaguan.unizar.es/record/5473/files/TAZ-PFC-2010-414.pdf>
- Higuera-Gutierrez, L. F., Floréz-Duque, J., Gómez Alvarez, A., & Patiño-Carreño, J. (2019). Prevalencia de Anticuerpos Irregulares en Pacientes Transfundidos en Medellín-Colombia 2016-2018. *Archivos de Medicina*, 15(2). <https://doi.org/10.3823/1414>
- Luna Falcón, C. F. (2022). *ANÁLISIS DE LA RAZÓN DE PRUEBAS CRUZADAS POR TRANSFUSIÓN EN CIRUGÍAS PROGRAMADAS EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO "DR. JOSÉ E. GONZÁLEZ."* UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN FACULTAD DE MEDICINA.
- Marquez-Rodríguez, B., & Jaime Oviedo López, D. (2021). *SANGRE ARTIFICIAL [UNIVERSIDAD DE SEVILLA-FACULTAD DE FARMACIA]*. <https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/132964/MARQUEZ%20RODRIGUEZ%20BLANCA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Marrón-Peña, M. (2017). Historia de la transfusión sanguínea. *Revista Mexicana de Anestesiología*, 40(3), 233–238. <http://www.medigraphic.com/rma>
- Resolución 0901 de 1996, Ministerio de Salud Pública (1996). <https://www.ins.gov.co/Normatividad/Resoluciones/RESOLUCION%200901%20DE%201996.pdf>
- Ministerio de Protección Social. (2006). *POLÍTICA NACIONAL DE SANGRE*. www.minproteccionsocial.gov.co
- Manual Técnico de Hemovigilancia en Bancos de Sangre de Medicina Transfusional, (2004).
- Resolución 3212 de 2018, (2018). <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/DIJ/resolucion-3212-de-2018.pdf>
- Motoche, A. (2015). *VALORACIÓN DE LA PRESENCIA DE ANTICUERPOS ANTI D CUANDO SE TRANSFUNDE CONCENTRADOS DE GLÓBULOS ROJOS TIPIFICADOS CON VARIANTES Rh D POSITIVOS A PACIENTES TIPIFICADOS CON VARIANTES Rh D NEGATIVOS MEDIANTE LA REALIZACIÓN DE LA PRUEBA ANTIGLOBULÍNICA INDIRECTA UTILIZANDO MUESTRAS DE*

SANGRE DE PACIENTES ATENDIDOS EN EL SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL DEL H.P.G.D.R. DURANTE EL PERÍODO DE MARZO - AGOSTO DEL 2013 [Universidad de Chimborazo]. <http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/1152/1/UNACH-EC-LAB.CLIN-2013-0027..pdf>

- Pan American Health Organization. (2012). *Estándares de trabajo para servicios de sangre* (Tercera).
- Phatak, U. R., Kristol, D., Arora°, R. R., & Spillert°, C. R. (n.d.). *Combined Effect of Mercuric Ion and Silver Ion on the Clotting Time of Blood*.
- Presidencia de la República de Colombia. (1993). DECRETO 1571 DE 1993. *Diario Oficial N° 40.989*. https://minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/DECRETO%20%201571%20DE%201993.pdf
- Sandoval-Triguero, M. (2015). *DETERMINACIÓN DE LOS VALORES DE HEMATOCRITO Y SU INCIDENCIA EN ANEMIA EN NIÑOS DE 5 A 10 AÑOS CIUDADELA SOL BRISA CANTÓN BABAHOYO PROVINCIA LOS RÍOS PRIMER SEMESTRE 2015*. [UNIVERSIDAD TÉCNICA DE BABAHOYO]. <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/1550/T-UTB-FCS-LAB-000055.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Secretaría Distrital de Salud Bogotá. (2021). Boletín 2020-Red Distrital de Sangre. *Boletín Anual 2020*. http://www.saludcapital.gov.co/DDS/Boletín%20Estadístico/Boletín_Estadístico_Red_Sangre_2020.pdf
- Serati-Nouri, H., Jafari, A., Roshangar, L., Dadashpour, M., Pilehvar-Soltanahmadi, Y., & Zarghami, N. (2020). Biomedical applications of zeolite-based materials: A review. In *Materials Science and Engineering C* (Vol. 116). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111225>
- Silva, M. del C., & García, M.-J. (2002). *Proceso Alternativo para una prueba cruzada inmediata por centrifugación* (Vol. 1). <https://books.google.com.co/books?id=0BugBnaU310C&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>.
- Sub Red Integrada de Servicios de Salud Sur. (2022). *MANUAL DE INMUNOHEMATOLOGIA*. <https://www.subredsur.gov.co/sites/default/files/planeacion/COM-LAB-TRA-MA-02%20V2%20INMUNOHEMATOLOGIA.pdf>
- Tapia, J. E. (2013). *REDUCCIÓN DE LA SOBRECARGA ANTIGÉNICA MEDIANTE LA REALIZACIÓN DE LA PRUEBA CRUZADA MAYOR EN FASE SALINA CUANDO SE PRESENTAN SOLICITUDES TRANSFUSIONALES DE URGENCIA, EMPLEANDO LAS MUESTRAS DE SANGRE DE LOS PACIENTES ATENDIDOS EN EL SERVICIO DE EMERGENCIA DEL H.P.G.D.R. DURANTE EL PERÍODO JULIO A NOVIEMBRE DEL 2012*. <http://dspace.unach.edu.ec/bitstream/51000/1161/1/UNACH-EC-LAB.CLIN-2013-0034..pdf>
- Zamudio-Godínez, L. (2003). *Reacciones transfusionales*. 139(3).