

**ESTUDIS PER A DETERMINAR LA COMPATIBILITAT  
TRANSFUSIONAL I ELS PROBLEMES DE LA SEVA  
UTILITZACIÓ PRÀCTICA**

Comunicació presentada el dia 26 de març de 1963 pel doctor

**J. COLOMINES I PUIG**

Ex-Adjunt del Laboratori del Pavelló d'Infància  
de l'Hospital d'Infecciosos de Barcelona

En la Medicina sovint s'han produït en tots els camps d'especialitat unes millores que queden com arraconades perquè llur utilització, no gens espectacular davant el malalt, sembla que només destorbi la pràctica corrent i rutinària. Són unes millores que semblen hipotètiques i desproporcionades, si hom valora les despeses de temps i els beneficis que aparentment s'obtenen.

Una d'aquestes millores és l'anomenada *prova encreuada*. Aquesta *prova encreuada* és el conjunt de dues proves bàsiques per a determinar la compatibilitat transfusional, més ben dit: la incompatibilitat transfusional, perquè amb elles el que pretenem d'aconseguir és l'eliminació d'aquelles sangs perilloses que poden provocar trastorns al malalt receptor malgrat que els grups i factors sanguinis siguin adequats.

La prova dita *major test* serveix per a detectar els anticossos que puguin existir en el sèrum del receptor, els quals poden entrar en col·lisió amb els antigens eritrocítics, i la prova *minor test* ens descobreix els anticossos del sèrum del donant enfront dels antigens del receptor. El conjunt d'ambdues proves és l'anomenada *prova encreuada*.

Naturalment que de seguida veiem que la prova important és la primera de les anomenades, perquè el volum d'anticossos possibles en la sang del receptor pot esdevenir molt gran i, en canvi, el de la sang transfosa sempre és més limitat. Tot això ens fa entendre que una incompatibilitat motivada per uns anticossos presents en la sang del receptor, actuant davant els antigens de la sang transfosa, serà més forta i pot arribar a ésser tràgica.

Vistes aquestes possibilitats, i vist tot el tràfec que comporta la utilització de totes aquestes proves, els estudiosos s'han arribat a preguntar si calia usar d'una manera sistemàtica tots dos *tests*.

Perquè no és, només, que el fet d'haver de practicar la *prova minor* comporti més feina i més temps, a vegades precíus, sinó que això limita l'ús de les sangs universals només als casos en què el receptor és O. Altrament, la presència de les aglutinines anti-A i anti-B emmascararia les reaccions.

Vaig prendre part en un curset que, sobre aquestes tècniques, els representants de la DADE Reagents, INC, a Barcelona, celebraren. En aquest curset analitzàrem totes les possibilitats de proves de detectació d'anticossos.

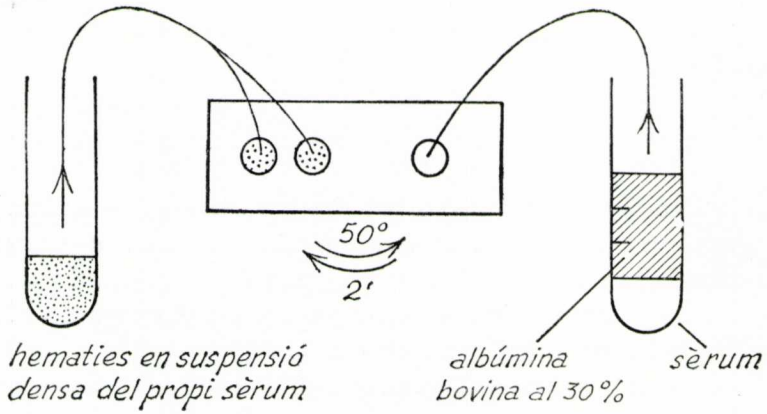


Fig. 1. — Prova damunt porta.

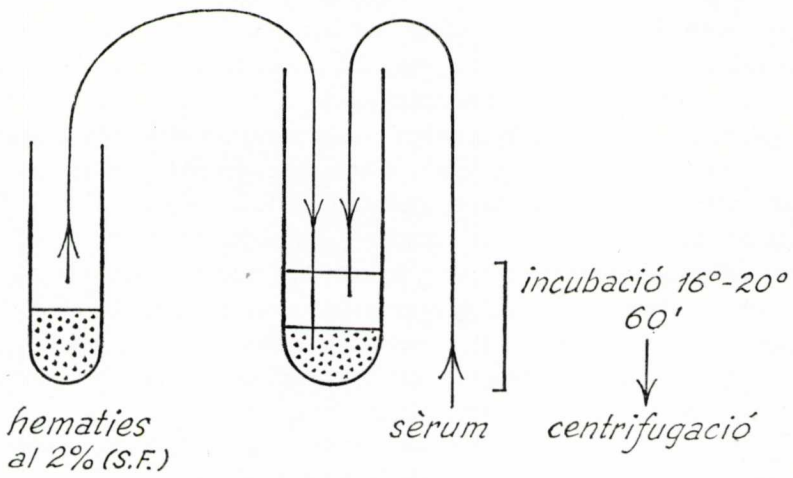


Fig. 2. — Prova salina en tub i en fred.

Més ben dit, no pas totes, perquè n'analitzàrem set, que són les que prèviament els Drs. James J. GRIFFITS, Pauline SCHMIDT i R. N. MARTIN havien seleccionat per a la demostració de les isohemoaglutinines. Aquestes proves són:

1. *Prova damunt porta* (1).
2. *Prova salina en tub i en fred* (2).
3. *Prova salina en tub a 37°* (3).
4. *Alta concentració proteica* (4).
5. *Prova de Coombs indirecta* (5).
6. *Hematies tractades amb papaïna* (6).
7. *Prova de la bromelina* (7).

En els gravats, i en esquema, veiem la tècnica d'aquestes diferents proves. Cal fer constar que en cadascuna d'elles hem tractat de posar de manifest la presència d'anticossos d'una mostra de sèrum. Oblidem ara si aquest sèrum és de la sang d'un donant o d'un receptor. Això, cal considerar-ho més endavant. Perquè això són tècniques de detectació, i prou. Serà quan estudiarem la prova complexa, o sigui la *prova encreuada*, que estudiarem incompatibilitats. Perquè, llevat les aglutinines anti-A i anti-B que es troben de faisó natural en qualsevol persona, sempre d'acord amb el seu grup sanguini, les altres sempre provenen d'immunitzacions, sigui per embaràs o bé per transfusions rebudes. Amb aquestes proves ens interessa de veure si un sèrum duu altres aglutinines diferents a les naturals.

A la pràctica, usar cada vegada aquestes 7 tècniques fóra quelcom molt complicat, i com que, per altra banda, no podem triar unes proves a la ventura, haurem de veure quines combinacions ens serà donat de fer per obtenir el màxim d'efectivitat amb el mínim d'esforç.

Haig de fer constar que segueixo els treballs publicats per la DADE Reagents, INC.\*

Partim d'un estudi selectiu de 668 sèrums humans en cadascun dels quals hi ha anticossos prèviament coneguts, i vegem en quin tant per cent són detectats emprant cadascuna de les tècniques abans descrites. Per tal de simplificar dades només parlarem dels resultats positius, que a fi de comptes són els que ens interessin (veg. fig. 8).

En el gravat 8 veiem que amb la *prova de l'alta concentració proteica* dita, assolim una positivitats que raneja al 81%. Segueixen per ordre de majors

\* *Prácticas de prueba cruzada*. Dade-Grífols, S.A.

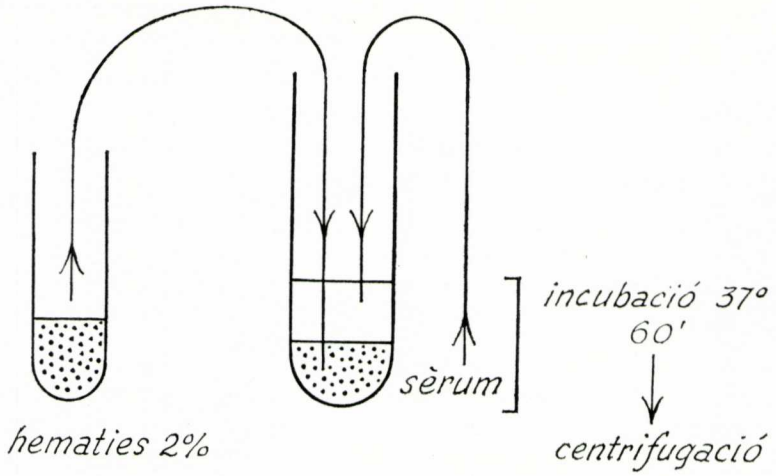


Fig. 3. — Prova salina en tub a 37°.

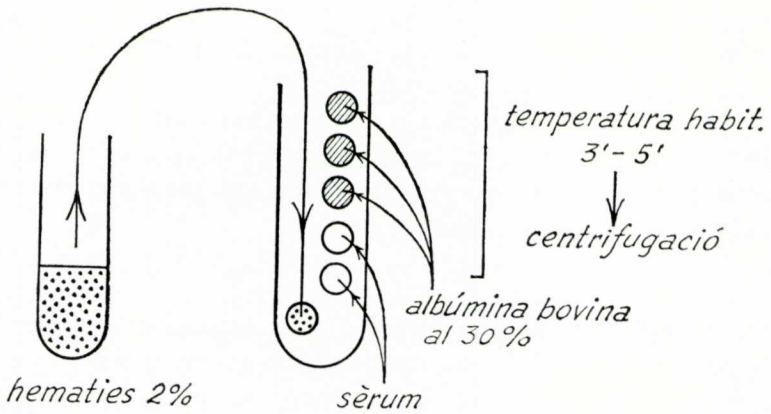


Fig. 4. — Alta concentració proteica en tub.

positivitats la prova de la *bromelina* i la prova de *Coombs indirecta*. Això s'obté emprant en cada sèrum aquestes proves i donant els resultats individuals aconseguits.

Ara: cadascuna d'aquestes proves és més selectiva d'uns anticossos que no d'uns altres. Per exemple: és ben cert i sabut que la *prova de Coombs indirecta* és més efectiva per a l'aglutinina anti-D, i encara més en d'altres

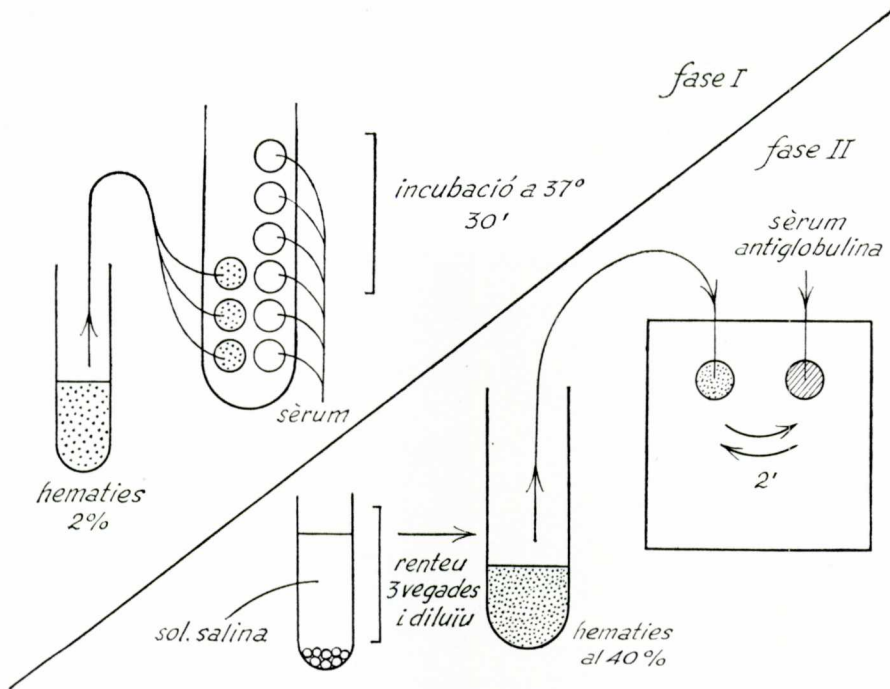


Fig. 5. — Prova de Coombs indirecta.

anticossos més rars, com és ara l'anti-K, per exemple. Amb la *prova de l'alta proteïna*, amb la del *porta* i amb la de la *bromelina* detectarem anti-C, anti-E, anti-c i anti-e. Els anticossos anti-M, anti-P, anti-S i d'altres són més ben detectats per la *prova salina en fred* i per l'*alta proteïna en tub*. Etc. (veg. fig. 9).

En la figura 9 hi ha seleccionades les diferents aglutinines, que són presents en un nombre de sèrums coneguts. Per exemple: veiem 187 sèrums amb aglutinina anti-D. Considerem aquests. Veiem una positivitats clara en 183 sèrums (quan, si la cosa fos perfecta, hauria d'ésser en els 187), amb la *prova de Coombs indirecta*; 175, amb la del *porta*; 175, amb la de la *bromelina*.

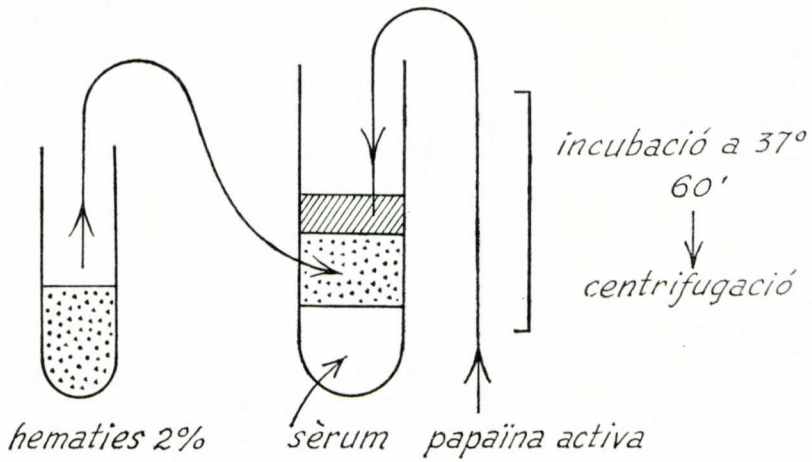


Fig. 6. — Hematies tractades amb papaïna.

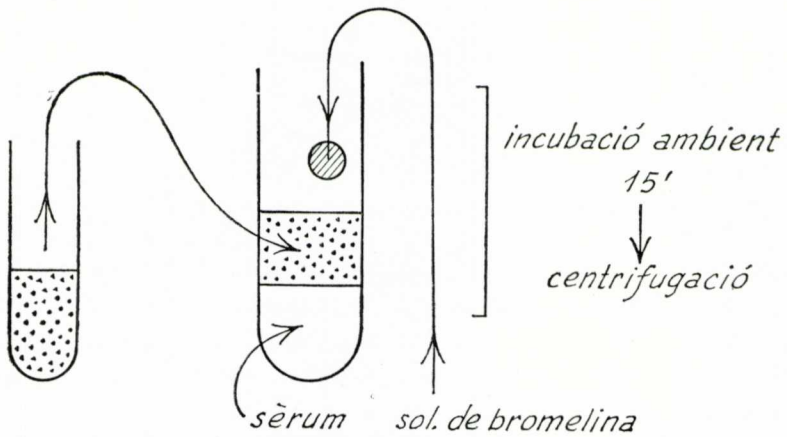


Fig. 7. — Hematies tractades amb bromelina.

L'anti-P, en canvi, ho ha estat 34 vegades de les 42 que ho havia d'ésser la *prova salina en fred*, 30 amb la *bromelina*, i 29 amb l'*alta proteïna en tub*, i veiem que amb la *prova de Coombs indirecta*, tan selectiva de l'anti-D, només surt positiva en un 10 %.

Vistos aquests resultats, i vist que la positivitat canviava segons la prova emprada, hom intentà d'utilitzar dues proves alhora en lloc d'una i veure'n els resultats. És a dir: el que hom intentà fou de donar els resultats de positi-

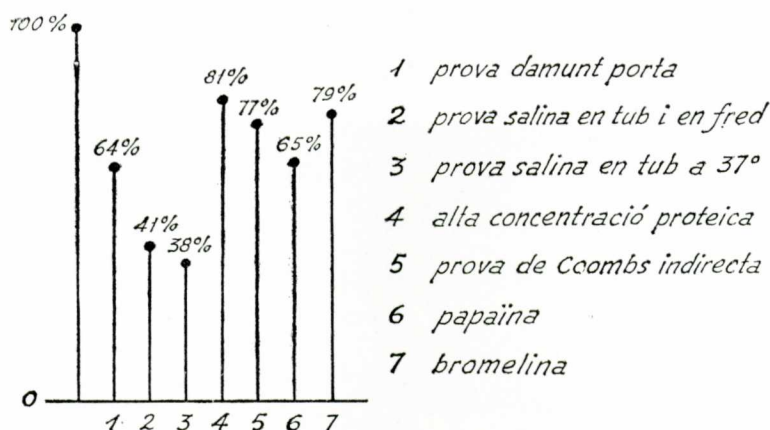


Fig. 8

vitats treballant amb parelles de proves, i quan una d'elles sortia positiva, el resultat global d'ambdues era marcat com a positiu.

Hom pervingué en aquesta conclusió en considerar que els anticossos lliures eren detectats en un nombre limitat (veg. el tub de la fig. 9) per la *prova del porta*, per exemple, i que amb l'*alta proteïna*, ultra la detecció d'uns anticossos gairebé específics, també en detecta part dels altres. I el mateix podem dir amb la *prova de Coombs indirecta*. En la figura 9 he deixat que la *bromelina* actués damunt d'un sol anticòs per tal de fer més clar aquest raonament. Vist això, sembla que pot quedar clar que la pràctica d'aquestes tres proves plegades, és a dir, la valoració en bloc del conjunt d'aquestes tres proves detectarà gairebé tot el massís d'anticossos que són presents en el líquid examinat.

A més, cal considerar que en dir que donem per positiva la prova, si en una de les tècniques hi ha detecció, vol dir encara una millor garantia, perquè aquí tractem, no pas de la troballa d'una acurada prova per a posar



en evidència anticossos, sinó de veure de quins procediments ens podem valer per a arribar a un tant per cent de positivitat més generós. I ja veurem que la positivitat, en el cas de les proves encreuades, vol dir eliminació de la sang a transfondre i, per tant, una major garantia.

En la taula I veiem les combinacions fetes, i hem separat les positivitats segons que emprem una, dues o tres tècniques, i la millora és ben evident. Les positivitats van guanyant des del 64 al 87 fins al 95 %. I fins i tot amb d'altres combinacions assolim el 96'5 %.

Taula I

## PERCENTATGES DE POSITIVITAT

Prova damunt porta	64 %	} 87 %	} 95 %
Alta concentració proteica			
Coombs indirecta			
Alta concentració proteica	81 %	} 94 %	} 96,5 %
Coombs indirecta			
Bromelina			
Bromelina	79 %	} 91 %	} 96,5 %
Alta concentració proteica			
Coombs indirecta			

Per l'estudi particular de cada prova i per l'estudi global pervinguérem a la conclusió que les millors proves eren l'*alta proteïna*, la de la *bromelina* i la prova de *Coombs indirecta*. I el resultat màxim aconseguit fou del 96'5 %. És a dir: hom podria detectar el 96'5 % dels anticossos, fossin quins fossin, presents en una mostra de sèrum.

De les tres proves escollides, la *prova de Coombs indirecta*, com abans he esmentat, en el gravat 5, és la més complicada i la que requereix més temps. Si observem la diferència del tant per cent de positivitat, o, dit més clarament, la possibilitat que un sèrum sigui donat com a lliure d'anticossos havent-n'hi, emprant dues o bé tres proves, veiem que és en una proporció del 5'5 %; però com que sabem que la *Coombs indirecta* és la prova més efectiva per a l'anti-D però que on realment és molt electiva és en la detectació dels anticossos Fy, K, J, sobretot comparant-la amb les altres tècniques emprades, veiem que el risc, per la proporció en què aquestes aglutinines apareixen, és d'un 1/10,000. Sabent que el cirurgià treballa amb un risc de l'1'1 %, i si el cas és urgent, èticament ens serà permès de prescindir d'aquesta prova.

Arribem, doncs, a la conclusió que el nombre de proves a fer és el de tres, però que en un cas d'urgència podem prescindir de la *prova indirecta de Coombs*.

Fins fa una vintena d'anys, com a prova màxima, a part les determinacions de grup, naturalment, hom feia la prova de la compatibilitat barrejant les hematies del donant amb el sèrum del receptor. Això, és clar, en el millor dels casos. Ara: ja he dit que les úniques aglutinines naturals fins avui conegudes són les anti-A i anti-B, però des que la transfusió ha esdevingut una

<u>sèrums</u>	<u>aglutinines</u>	<u>1</u>	<u>2</u>	<u>3</u>	<u>4</u>	<u>5</u>	<u>6</u>	<u>7</u>
187	anti D	175	57	65	179	183	152	175
63	anti C	60	18	18	60	53	52	60
42	anti P	1	34	12	29	4	20	30

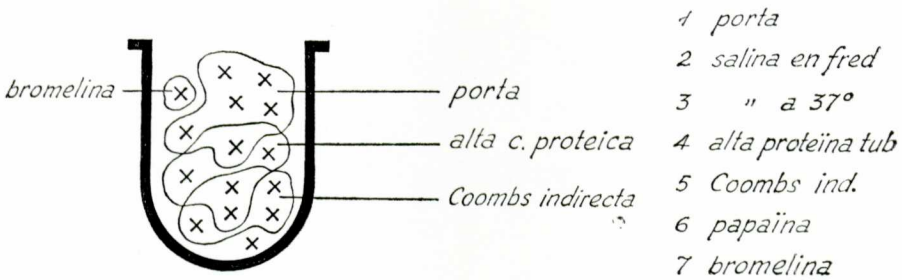


Fig. 9

pràctica corrent, la possibilitat de producció de noves aglutinines com a resposta a antigens globulars ha augmentat considerablement. I ha augmentat en el donant i en el receptor. Per això cal detectar els anticossos possibles en ambdós individus. Amb això entrem de ple a la *prova encreuada*. I això és molt important. Perquè tenint present els antigens coneguts, la identitat entre la sang d'un donant i la sang d'un receptor d'una manera natural només podrà produir-se en la proporció d'un 1 per 30.000 dels casos. Afigureu-vos, doncs, com tot això són possibilitats de trastorns.

Vegeu ara com funciona tot això, i us n'adonareu (fig. 10).

En la figura 10 veiem a l'esquerra la disposició en forma de piràmide de tres gradetes. La de la base, i a l'esquerra, conté els tubs d'hemòlisi amb les

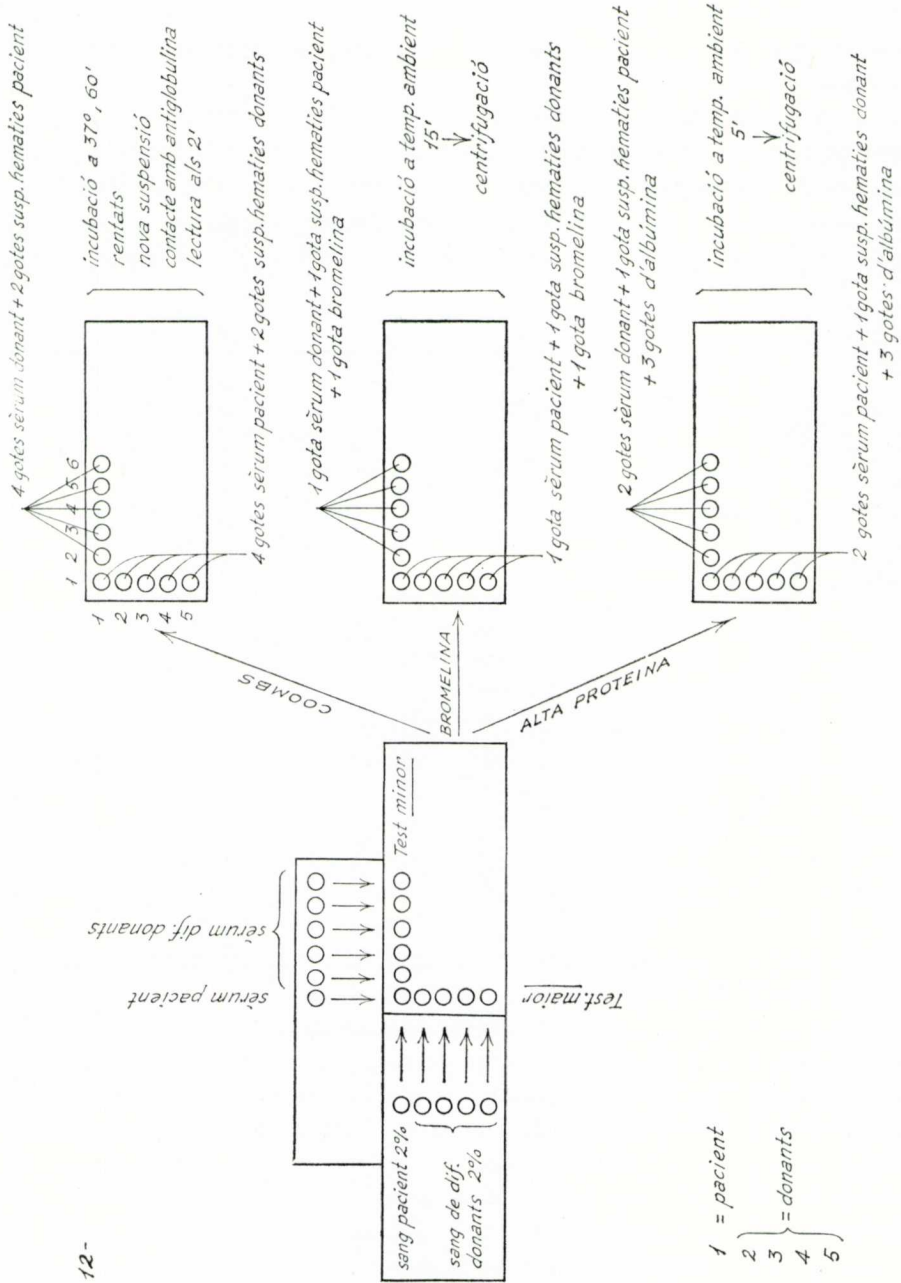


Fig. 10. — Prova encruçada.

hematies del pacient i les dels donants, sempre en la mateixa disposició per a simplificar l'operació. La gradeta de dalt conté els tubs amb els sèrums del pacient i els dels donants. Aquestes dues gradetes són els dipòsits que alimentaran la gradeta de baix i a la dreta en la qual s'esdevé la reacció, gradeta que hom canviarà segons que la prova a practicar sigui la de *Coombs*, la de la *bromelina* o la de l'*alta proteïna*, segons que ha estat marcat a la dreta del gravat. En cadascun dels tubs d'aquestes gradetes-problema hom practicarà, o bé la *prova de Coombs*, la de la *bromelina* o la de l'*alta proteïna*, segons les dades indicades a l'inici del treball. La col·locació dels tubs ha estat pensada talment que en els tubs del rengle horitzontal n.ºs. 2, 3, 4, 5 i 6 hi haurà les hematies del receptor i els sèrums dels donants, de manera que ens serà possible de detectar anticossos dels donants, la qual cosa ja hem dit que constituïa la *prova minor*. Per tant, el rengle horitzontal serà el *test minor*. En el rengle vertical i en els tubs 2, 3, 4 i 5 hi haurà les hematies dels diferents donants i el sèrum del receptor, amb la qual cosa realitzarem la *prova major*. És a dir: el rengle vertical serà el *test major*. I en el tub 1, o sigui el que queda a l'angle superior esquerre, com que contindrà hematies i sèrum del pacient, servirà de control.

Fetes les proves de *Coombs*, *bromelina* o *alta proteïna*, hom anotarà els resultats en una gràfica, i seran eliminades les sangs dels donadors que reaccionin positivament en la prova *major* o *minor*, la qual cosa voldrà dir, respectivament, o bé que el sèrum del pacient a transfondre té anticossos que reaccionen amb els antigens hemàtics dels donants, o bé que els sèrums dels donants contenen anticossos que reaccionen amb les hematies del malalt. En qualsevol d'ambdós casos cal eliminar aquests donants com a perillosos. Només seran vàlides aquelles sangs que no provoquen cap aglutinació.

Heus aquí el mecanisme de la *prova encreuada*. Aparentment pot semblar quelcom de complex, però la pràctica rutinària ho simplifica força.

Hem vist, doncs, el perquè de la *prova encreuada* i el com, és a dir, la seva pràctica. Però l'enunciat de la comunicació esmenta els problemes de la seva utilització, i aquests radiquen en el desconeixement de la part dels metges i especialistes que demanen una transfusió d'uns perills que són els que amb aquesta pràctica pretenem d'evitar. I radica en el fet que la seva utilització, si no ha estat perfectament planejada amb temps per l'hemoterapeuta, pel metge de capçalera, pel cirurgià o el partòleg, representa una fosa de temps i un obstacle tècnic difícil de salvar. I tot això ve agreujat encara pel fet que, amb proves o sense proves, gairebé mai no passa res. I aquí és on hi ha el nus de la qüestió. Com convèncer la gent? Perquè resulta que la *prova encreuada*

és una prova que cal que sigui practicada amb temps. És a dir : fóra de desitjar que de cada malalt que ingressés en una entitat hospitalària, en una clínica, per a una intervenció, o bé quan una dona entra en el període del part, fos enviada una mostra de la seva sang al transfusor perquè aquest, a més de determinar el grup i el factor Rh, pogués, en un moment determinat, sense cap altre desplaçament, seleccionar les sangs adequades a cada cas. Aquestes proves, si la sang és al laboratori de transfusió o bé del banc de sang, poden fer-se en mitja hora. Perquè ja no n'hi ha prou, en preveure la possibilitat d'una transfusió, amb la determinació del grup sanguini i el factor Rh, que, dit sigui de passada, no sempre es practica perquè ens fiem de les sangs universals i Rh negatives, sinó que cal posar al descobert la possibilitat d'una presència d'anticossos en els sèrums de les sangs que s'han de mesclar en el sistema circulatori del malalt, si no volem provocar accidents desagradables immediats.