

## PUBLICACIÓN ANTICIPADA

### Publicación anticipada

El Comité Editor de la Revista del Cuerpo Médico Hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo aprobó para publicación este manuscrito, teniendo en cuenta la revisión de pares que lo evaluaron y levantamiento de observaciones. Se publica anticipadamente en versión pdf en forma provisional con base en la última versión electrónica del manuscrito, pero sin que aún haya sido diagramado ni se le haya hecho la corrección de estilo. Siéntase libre de descargar, usar, distribuir y citar esta versión preliminar tal y como lo indicamos, pero recuerde que la versión electrónica final y en formato pdf pueden ser diferentes.

### Advance publication

The Editorial Committee of the Journal Cuerpo Medico Hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo approved this manuscript for publication, taking into account the peer review that evaluated it and the collection of observations. It is published in advance in a provisional pdf version based on the latest electronic version of the manuscript, but without it having been diagrammed or style corrected yet. Feel free to download, use, distribute, and cite this preliminary version as directed, but remember that the final electronic and pdf versions may differ.

**Citación provisional** / Fernandez Bolivar L. Técnicas moleculares y seguridad transfusional en anemia hemolítica autoinmune: hacia una nueva era en medicina transfusional. Rev. Cuerpo Med. HNAAA [Internet]. 9 de febrero de 2025 [citado 9 de febrero de 2025];17(4). DOI: [10.35434/rcmhnaaa.2024.174.2242](https://doi.org/10.35434/rcmhnaaa.2024.174.2242)

Recibido / 03/11/2023

Aceptado / 29/12/2024

Publicación en Línea / 09/02/2024



**Técnicas moleculares y seguridad transfusional en anemia hemolítica autoinmune:  
hacia una nueva era en medicina transfusional**

**Molecular techniques in transfusion management of patients with autoimmune  
hemolytic anemia**

**Lizette Fernandez-Bolivar** <sup>1,2, a,b</sup>

1. Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins, EsSalud. Lima, Perú.
2. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima, Perú.
  - a. Licenciado en Tecnología Médica especialidad en Laboratorio Clínico con segunda especialidad en Hemoterapia y Banco de Sangre
  - b. Magister en Salud Pública y Salud Global

**ORCID:**

Lizette Fernandez-Bolivar

<https://orcid.org/0000-0003-3051-3678>

**Autor para correspondencia:**

Lizette Fernandez-Bolivar

E-mail: Lizette.fernandez.b@gmail.com

Teléfono de contacto: +51989496169

**Contribución de autoría:** L.F.B: Conceptualización, Investigación, Metodología, Redacción – borrador original, Redacción – revisión y edición.

**Financiamiento:**

La autora no recibió financiamiento específico para este trabajo.

**Conflicto de intereses:** La autora declara no tener conflictos de intereses.

## RESUMEN

La anemia hemolítica autoinmune (AHAI) es una enfermedad rara que dificulta las pruebas pretransfusionales debido a la presencia de autoanticuerpos que interfieren con las técnicas serológicas convencionales. Esto aumenta el riesgo de aloinmunización y complica la selección de unidades compatibles, especialmente en pacientes multitransfundidos. Este artículo revisa el uso de técnicas moleculares como la genotipificación eritrocitaria para mejorar la seguridad transfusional en pacientes con AHAI. Se revisaron bases de datos como PubMed, Cochrane, Medline, y Scielo para identificar estudios relevantes publicados entre 2013 y 2024. Las técnicas moleculares permiten una tipificación más precisa y rápida, eliminando las interferencias serológicas, pero enfrentan barreras como los altos costos y la infraestructura limitada en países como Perú. Se propone la centralización de laboratorios de inmunohematología molecular como una solución costo efectiva para garantizar el acceso equitativo. Estas herramientas representan un avance significativo hacia una transfusión más segura y eficiente a nivel nacional.

**Palabras Claves:** *Anemia hemolítica autoinmune; Autoanticuerpos; Técnicas de Genotipaje; Seguridad de la Sangre.* (Fuente: DeCS, BIREME).

## ABSTRACT

Autoimmune hemolytic anemia (AIHA) is a rare disease that complicates pre-transfusion tests due to the presence of autoantibodies interfering with conventional serological techniques. This increases the risk of alloimmunization and hinders the selection of compatible units, particularly in multi-transfused patients. This article reviews the use of molecular techniques, such as red blood cell genotyping, to improve transfusion safety in AIHA patients. Data sources such as PubMed, Cochrane, Medline, and Scielo were reviewed to identify relevant studies published between 2013 and 2024. Molecular techniques provide faster and more precise typing, overcoming serological interferences, but face challenges like high costs and limited infrastructure in countries like Peru. The centralization of molecular immunohematology laboratories is proposed as a cost effective solution to ensure equitable access. These tools represent a significant step towards safer and more efficient transfusion practices.

**Keywords:** *Autoimmune haemolytic anaemia; Autoantibodies; Genotyping Techniques; Blood Safety* (Source: MeSH, NLM).

## INTRODUCCIÓN

La anemia hemolítica autoinmune (AHAI) es un trastorno hemolítico adquirido y poco frecuente, caracterizado por la producción de autoanticuerpos que atacan los antígenos eritrocitarios propios, reduciendo la vida media de los glóbulos rojos <sup>(1)</sup>. Su incidencia es de 1 a 3 por cada 100000 habitantes al año <sup>(2)</sup>. En estos pacientes, las pruebas pretransfusionales presentan alta complejidad debido a la interferencia de autoanticuerpos, lo que dificulta la selección de unidades compatibles y aumenta el riesgo de aloinmunización <sup>(3)</sup>.

Actualmente, las técnicas serológicas convencionales, como la hemaglutinación, son el estándar para la compatibilidad sanguínea. Sin embargo, estas enfrentan limitaciones significativas, particularmente en pacientes multitransfundidos, donde la interferencia de autoanticuerpos puede enmascarar aloanticuerpos clínicamente relevantes<sup>(4)</sup>. En contraste, las técnicas moleculares, como la genotipificación mediante PCR o la secuenciación de nueva generación (NGS), permiten una tipificación más precisa y rápida, superando estas barreras y mejorando significativamente la seguridad transfusional <sup>(5)</sup>.

En Perú, el manejo transfusional aún depende casi exclusivamente de métodos serológicos, lo que incrementa el riesgo de complicaciones graves en pacientes con AHAI. Además, la falta de laboratorios especializados en inmunohematología molecular limita el acceso a tecnologías avanzadas que ya son comunes en otros países. Estudios internacionales han demostrado que la implementación de estas herramientas puede ser costo-efectiva, incluso en contextos con recursos limitados, al reducir complicaciones asociadas y optimizar la atención transfusional <sup>(6,7)</sup>.

Los pacientes con AHAI tienen tasas de aloinmunización de hasta el 40%, significativamente superiores a las de otros pacientes multitransfundidos <sup>(8)</sup>. Aunque las técnicas serológicas permiten detectar aloanticuerpos, procedimientos como la adsorción alogénica o autóloga requieren tiempo y grandes volúmenes de muestra, lo que puede retrasar transfusiones urgentes <sup>(9)</sup>. En este contexto, las técnicas moleculares son esenciales para identificar antígenos eritrocitarios sin interferencia de células del donante, abordando de manera eficaz las limitaciones de métodos tradicionales.

Esto es particularmente importante en pacientes multitransfundidos, donde las técnicas tradicionales tienden a fallar, según lo reportado en un análisis reciente sobre su impacto clínico. Actualmente, las técnicas moleculares, basadas en el análisis de ADN, mediante PCR multiplex, microarreglos y secuenciación, permiten una tipificación más precisa y rápida, mejorando la seguridad transfusional <sup>(10)</sup>.

A diferencia de países donde las técnicas moleculares complementan a la serología, en Perú no existen infraestructuras que respalden estas innovaciones. Sin embargo, estudios realizados en países con recursos similares han demostrado que la implementación de estas herramientas, aunque desafiante, puede ser una inversión sostenible que optimice la atención transfusional <sup>(11-13)</sup>.

Esta revisión analiza el impacto de las técnicas moleculares en el manejo transfusional de pacientes con AHAI y propone su implementación en Perú como una solución viable para mejorar la seguridad transfusional. Además, se discute la centralización de estas tecnologías como una estrategia clave para superar barreras económicas y logísticas, sentando las bases para una atención más equitativa y eficiente.

## **METODOLOGÍA**

Este artículo es una revisión narrativa que recopila información actualizada sobre la aplicación de técnicas moleculares en el manejo transfusional de pacientes con anemia hemolítica autoinmune (AHAI). Se consultaron las bases de datos *Cochrane de Revisiones Sistemáticas*, *Medline*, *PubMed* y *SciELO*, utilizando palabras clave como “Anemia hemolítica autoinmune”, “Autoanticuerpos”, “Genotipado eritrocitario”, “Seguridad transfusional”, en inglés y español. Las búsquedas se realizaron con operadores booleanos como AND y OR para garantizar una exploración exhaustiva de la literatura.

Los artículos seleccionados incluyeron estudios originales, revisiones sistemáticas y guías clínicas publicadas entre 2013 y 2024, priorizando aquellos publicados en revistas indexadas y con relevancia clínica para el manejo transfusional en AHAI. Se dio especial atención a estudios que describieron avances tecnológicos recientes, como PCR multiplex, secuenciación de nueva generación (NGS) y microarreglos, y su impacto en la seguridad

transfusional. Se excluyeron artículos no revisados por pares, publicaciones sin acceso completo al texto y estudios sin relación directa con el manejo transfusional en AHAI.

La calidad de los estudios seleccionados fue evaluada utilizando herramientas como AMSTAR para revisiones sistemáticas y GRADE para guías clínicas, asegurando la inclusión de evidencia de alta calidad. Inicialmente se identificaron 152 artículos, de los cuales 37 cumplieron con los criterios de inclusión tras la revisión de títulos, resúmenes y contenido completo. Este enfoque permite sintetizar la evidencia más relevante y reciente sobre los avances tecnológicos en el manejo transfusional de AHAI.

## RESULTADOS

### Anemia hemolítica autoinmune

La anemia hemolítica autoinmune (AHAI) es una enfermedad en la que el sistema inmune produce anticuerpos que atacan a los glóbulos rojos propios del organismo, produciendo una anemia que varía desde la ausencia de síntomas hasta una hemólisis grave que pone en peligro la vida de la persona afectada<sup>(14)</sup>.

La AHAI está catalogada como una enfermedad rara, y se observa que la incidencia en el Perú es de 1-4 casos por cada 100000 habitantes/año<sup>(15)</sup>. En el Hospital Nacional Dos de Mayo, en el año 2017 los casos de AHAI se presentaron en una relación de 19 de 10000 pacientes, de estos el 74 % fueron de sexo femenino y mayores de 40 años con un 63% y de tipo secundarias asociadas a una enfermedad con un 84%<sup>(16)</sup>.

Se pueden clasificar según la etiología y la temperatura de reacción óptima de los autoanticuerpos. En etiología, la AHAI se clasifica en idiopática o primaria cuando no se asocia a otras patologías y secundaria cuando se asocia a otras enfermedades como linfoma, reumatismo, tumores, enfermedades inflamatorias o ciertos fármacos relacionados<sup>(17)</sup>. Según la temperatura de reacción de los autoanticuerpos, se divide en: AHAI por anticuerpos calientes (w-AHAI) con una temperatura óptima de 37°C, AHAI por anticuerpos fríos con una temperatura óptima de 4°C y AHAI mixta cuando es mediada por ambos tipos de anticuerpos<sup>(18)</sup>.

1. **Anemia hemolítica autoinmune por anticuerpos calientes (w-AHAI):** Es el tipo más común, representa el 48-70% de los casos de AHAI y el 70- 80% de todos los casos

de adultos. Está mediada por autoanticuerpos que reaccionan de forma óptima a 37°C; anticuerpos de clase IgG1 o IgG3, a veces IgM o IgA, solos o con anticuerpos de clase IgG<sup>(19)</sup>. Los anticuerpos involucrados producen hemólisis extravascular en el sistema reticuloendotelial, pero en casos especiales los anticuerpos IgG son capaces de producir activación del complemento e inducir hemólisis intravascular. Los pacientes con frecuencia presentan Hb <7 g/dl, reticulocitosis y parámetros bioquímicos de hemólisis, como bilirrubina indirecta elevada, haptoglobina reducida o ausente y enzima lactato deshidrogenasa (LDH) elevada. Además, un pequeño porcentaje de pacientes puede desarrollar una trombocitopenia autoinmune llamada síndrome de Evans<sup>(18)</sup>.

Estos pacientes presentan una prueba de Coombs directo (CD) positiva, en el 90% de los casos es IgG solo o con C3 y el 10% solo C3; sin embargo, entre el 1% al 4% son Coombs directo negativo. Si el CD es positivo por IgG, los autoanticuerpos pueden ser eluidos de la membrana y examinar su reactividad frente a otros hematíes con una prueba indirecta de antiglobulina. Por lo general el eluido se comporta como una panaglutinina, pero en algunos casos muestra una cierta especificidad relativa frente a determinados antígenos del sistema Rh como el auto anti-e. En la w-AHAI suele también encontrarse autoanticuerpos libres en el suero del paciente, que reacciona frente a todos los hematíes normales, dando un resultado positivo en el escrutinio y en la identificación de anticuerpos irregulares, así como en las pruebas cruzadas pretransfusionales<sup>(18)</sup>.

**2. Anemia hemolítica autoinmune por anticuerpos fríos:** Está mediada por autoanticuerpos que reaccionan de forma óptima a 4°C. Se clasifican según las características de los anticuerpos en:

**A. AHAI mediada por aglutininas frías (Síndrome por aglutininas frías):**

Representa aproximadamente el 15 % de los casos de AHAI, ocurre en personas de entre 50 a 70 años, principalmente en mujeres y ocasionalmente en niños. Las formas secundarias representan el 40% de todos los casos y generalmente se asocian con síndromes linfoproliferativos B como linfomas, macroglobulinemia de Waldstrom, infección por *Mycoplasma pneumoniae* o virus de Epstein-Barr<sup>(18)</sup>. Está mediada por autoanticuerpos fríos (IgM) que inducen la fijación del complemento. Los autoanticuerpos libres en el suero del paciente hacen que los

glóbulos rojos normales se aglutinen a baja temperatura, con títulos altos a 4°C y respuestas bajas por debajo de los 30°C. Dependiendo del grado de exposición al frío, desarrollan hemólisis hepática y anemia crónica <sup>(20)</sup>. Las muestras de sangre exhiben autoaglutinación a temperatura ambiente, lo que dificulta los frotis de sangre y los recuentos de células. Esta autoaglutinación aumenta a 4°C y se invierte cuando la muestra se calienta a 37°C. Por lo tanto, la aglutinina fría debe dispersarse lavando los glóbulos rojos con solución salina precalentada a 37°C antes de procesar la muestra. Son positivos para la prueba de Coombs directa anti-C3, pero negativos para IgG, además tienen especificidad anti-I en pacientes con infecciones por *Mycoplasma pneumoniae* y anti-i en pacientes con mononucleosis infecciosa <sup>(18)</sup>.

**B. Hemoglobinuria paroxística a frigore (HPF):** Trastorno muy infrecuente, en menos del 1% de casos de AHAI, presente en niños que han sufrido una infección vírica o bacteriana. Los pacientes presentan un episodio agudo de hemólisis transitoria no relacionado con exposición al frío, siendo la hemólisis de inicio agudo y provocando anemia progresiva <sup>(21)</sup>.

Los autoanticuerpos son del tipo IgG, pero reaccionan con los glóbulos rojos en las regiones más frías del cuerpo, provocando que C3 se fije y se disocie de forma irreversible a temperaturas más altas. Son positivos para la prueba de Coombs directa anti-C3 y el eluido es negativo <sup>(18)</sup>. Los autoanticuerpos se unen a los glóbulos rojos normales a 4°C y se hemolizan cuando los glóbulos rojos se calientan a 37°C en presencia de complemento. La prueba de Donath-Landsteiner demuestra la presencia de hemolisina bifásica en el suero de estos pacientes. Tienen especificidad anti-P y alcanzan títulos superiores a 64, provocando la aparición súbita de anemia grave por hemólisis intravascular <sup>(18,21)</sup>.

**3. Anemia hemolítica autoinmune mixta:** Ocurre en alrededor del 10% de los casos de AHAI, de los cuales del 25% al 42% tienen Lupus eritematoso. La severidad de la anemia en AHAI mixta puede variar dependiendo de la cantidad de autoanticuerpos y la respuesta del organismo, algunos casos presentan anemia muy grave. En la AHAI mixta pueden estar presentes tanto autoanticuerpos de tipo frío (IgM) como calientes



(IgG), pero la proporción y la actividad de estos autoanticuerpos pueden variar significativamente entre los pacientes. Los títulos de anticuerpos IgM son  $\leq 64$ , típicamente se miden a temperaturas bajas ( $4^{\circ}\text{C}$ ) debido a su actividad a temperaturas frías; y la prueba de Coombs directo es positivo por IgG y C3, además el eluido contiene el autoanticuerpo IgG esperado (22).

### **Técnicas moleculares en el manejo transfusional**

Se han desarrollado numerosas metodologías de análisis de ADN, en base al conocimiento de la base molecular de la mayoría de los antígenos eritrocitarios. Las técnicas moleculares para el análisis genético de grupos sanguíneos se clasifican en: Reacción en cadena de polimerasa (PCR de alelo específico, polimorfismo de longitud de fragmento de restricción de PCR, PCR- multiplex), PCR en tiempo real, Microarreglo y Secuenciamiento.

Otra forma de clasificación es por el uso en laboratorios de Emergencia (PCR de alelo específico, PCR de cebador específico de secuencia, polimorfismo de longitud de fragmento de restricción de PCR), por ser técnicas rápidas, económicas y con buena sensibilidad y especificidad para la detección de los principales antígenos de los grupos sanguíneos; y técnicas utilizadas de forma rutinaria en los laboratorios de Inmunohematología (PCR en tiempo real, Microarreglo y Secuenciamiento), por ser técnicas usadas a gran escala (23).

#### **1. Ventajas:**

Las ventajas de la genotipificación más importantes son (24):

- Tipificación de grupo sanguíneo de pacientes recién transfundidos con discrepancia.
- Tipificación de grupos sanguíneos raros.
- Tipificación de grupos sanguíneos en pacientes que reciben terapia monoclonal que interfiere con la serología.
- Determinación de la cigosidad paterna.
- Tipificación sanguínea fetal no invasiva.
- Resolución de análisis complejos de anticuerpos.

La técnica de PCR en tiempo real tiene una ventaja con respecto a las demás técnicas moleculares en inmunohematología por la velocidad de amplificación y el análisis de

productos amplificados, es ideal para un diagnóstico de emergencia <sup>(10)</sup>.

La técnica de microarreglo es la técnica a gran escala con un tiempo de respuesta corto y un alto rendimiento, permite identificar más de 30 antígenos diferentes y es aplicada en grandes centros de hemoterapia por la cantidad de muestras que requiere para su desarrollo <sup>(25)</sup>.

La técnica de secuenciación de nueva generación (NGS), ha demostrado una detección mejorada para antígenos débiles, cambios estructurales, variaciones en el número de copias, variantes genómicas y microquimerismo <sup>(24)</sup>. Además, complementa las pruebas serológicas y técnicas moleculares, con resultados completos y rápidos para la preselección e identificación de unidades compatibles o en el caso de unidades de grupos sanguíneos con fenotipo infrecuente que carece de uno o varios antígenos presentes <sup>(23)</sup>.

La genotipificación, solo se debe realizar una a dos veces, porque los antígenos de los grupos sanguíneos están determinados por los cambios en la secuencia de las bases del ADN del gen que codifica la proteína que expresa estos antígenos. Se puede prever el fenotipo del grupo sanguíneo de un individuo a partir de su ADN y esto forma parte del registro de transfusión del paciente, y a su vez se tiene una base de datos tipificada que se utiliza para una mejor coincidencia entre el donante y receptor en futuras pruebas de compatibilidad; para prevenir la aloinmunización <sup>(26)</sup>.

## **2. Limitaciones:**

Las técnicas actuales de genotipificación de grupos sanguíneos solo se enfocan en las pruebas de polimorfismos de un solo nucleótido, que son las diferencias a nivel de ADN para predecir el genotipo del antígeno; por ello tienen problemas para detectar variantes desconocidas, estructurales y variaciones en el número de copias <sup>(27)</sup>. Las mutaciones genéticas, como sustituciones, inserciones, deleciones de bases, mutaciones en el sitio de corte y empalme, recombinación alélica híbrida y mutaciones múltiples, pueden afectar la estructura y la actividad de la transferasa ABO, dando lugar a cambios en el fenotipo ABO <sup>(28)</sup>. La genotipificación predice un tipo de sangre, pero no determina el fenotipo de la forma en que lo hacen las pruebas serológicas. En algunas ocasiones el genotipo no se correlaciona con el fenotipo, por falta de expresión del gen en el antígeno de la membrana del glóbulo rojo <sup>(29)</sup>.

A pesar de las limitaciones de los métodos moleculares actualmente empleados, encontramos más fenotipos falsos negativos y falsos positivos que genotipos, lo que demuestra que la genotipificación es más eficiente para definir los tipos de sangre, especialmente en pacientes dependientes de transfusiones, como en el caso de los pacientes con AHAI que corresponden a un 4.92% <sup>(29)</sup>.

En la tabla 1, se compara las ventajas y limitaciones de las técnicas serológicas y moleculares:

**Tabla 1.** Ventajas y limitaciones entre las técnicas serológicas y moleculares.

Aspecto	Técnicas Serológicas (Anticuerpos)	Técnicas Moleculares (ADN)
Precisión en la detección de antígenos	Moderada a alta	Muy alta (PCR, NGS)
Interferencia por autoanticuerpos	Alta interferencia	Sin interferencia
Costo inicial	Bajo	Alto
Tiempo de realización	≤ 1 hora (rápido)	≥ 3 horas (lento, hasta 24 horas)
Compatibilidad para pacientes multitransfundidos	Limitada en casos complejos	Muy alta
Requerimientos de infraestructura	Mínimos	Alta (laboratorios especializados)
Riesgo de reacciones adversas	Alto, especialmente en AHAI	Muy bajo
Método	Manual/ Automatizado	Automatizado
Requerimientos de muestra	Glóbulos rojos frescos	Cualquier fuente celular
Detección de antígenos	Directa	Indirecta, "prevista"
Cobertura de antígenos clínicos	Sin reactivos para algunos antígenos clínicamente significativos	Tipificación para cualquier antígeno cuya base genética sea conocida

<b>Aspecto</b>	<b>Técnicas Serológicas (Anticuerpos)</b>	<b>Técnicas Moleculares (ADN)</b>
Expresión de antígeno débil o variable	Puede perderse la expresión de antígeno débil / variable	Detecta expresión débil de antígeno
Resolución	Baja resolución	Posibilidad de alta resolución

En Brasil, un estudio en 2020 demostró que la implementación de la PCR-SSP para la tipificación de antígenos sanguíneos en pacientes con hemoglobinopatías redujo significativamente la incidencia de aloinmunización en un 25 %. Este enfoque permitió seleccionar unidades altamente compatibles para pacientes multitransfundidos, disminuyendo las reacciones hemolíticas severas y mejorando la calidad de vida de los pacientes <sup>(25)</sup>. En Canadá, la centralización de laboratorios especializados en técnicas moleculares permitió la introducción de secuenciación de nueva generación (NGS) para la detección de antígenos raros, lo que resultó en una reducción del 30% en los costos relacionados con complicaciones transfusionales, como hospitalizaciones prolongadas <sup>(24)</sup>.

### 3. Costos:

La transfusión de glóbulos rojos es fundamental en el tratamiento de pacientes con transfusiones crónicas, como en el caso de pacientes con AHAI. Prevenir eventos de aloinmunización mediante compatibilidad anticipada ayuda a reducir costos y aumenta la eficacia del tratamiento. Un estudio de cohorte realizado por Kacker en 8500 pacientes con transfusiones crónicas en Estados Unidos, durante un periodo de 10 años, comparó los costos de las técnicas serológicas con las moleculares. El emparejamiento limitado prospectivo usando sólo técnicas serológicas generó un costo de US\$ 1,86 billones, mientras que el uso de técnicas moleculares redujo el costo a \$369,482 y evitó 2.072 eventos de aloinmunización <sup>(30)</sup>. Estos costos varían según el diagnóstico, antecedentes de transfusión y complejidad de los pacientes, con un promedio de US\$ 195 por paciente en población sin antecedentes, y hasta US\$ 1490 para pacientes con diagnósticos complejos, como la AHAI <sup>(31)</sup>.

En Brasil, un estudio realizado en 2019 <sup>(25)</sup>, comparó los costos, tiempo y confiabilidad de

resultados entre las técnicas serológicas (tarjeta gel) y moleculares (PCR-RFLP, PCR-SSP y microarreglos). Las técnicas serológicas fueron más rápidas, con un tiempo de ejecución de 25 minutos y un costo aproximado de \$ 32,45 por muestra. Por otro lado, las técnicas moleculares mostraron tiempos de realización más largos (PCR-RFLP: 19h 30min: PCR-SSP: 3h 20min; Microarreglo: 5h 20min), con costo entre \$18.07 y \$ 65,46 por muestra <sup>(25)</sup>. Aunque las técnicas moleculares descritas son más costosas en tiempo y recursos, su precisión y seguridad en la detección de antígenos eritrocitarios las hace altamente efectivas para pacientes con necesidades complejas.

A nivel internacional, las técnicas moleculares han demostrado beneficios significativos a largo plazo. En centros de transfusión europeos, el uso de PCR multiplex y NGS, redujo en un 30% los costos relacionados con eventos adversos transfusionales, al mejorar la precisión en la selección de unidades compatibles <sup>(32)</sup>. En Canadá y Alemania, la centralización de laboratorios especializados ha permitido amortizar los costos iniciales, evitando hospitalizaciones prolongadas y transfusiones incompatibles <sup>(12)</sup>.

En contraste, aunque las técnicas serológicas son más accesibles económicamente, presentan limitaciones significativas en pacientes multitransfundidos o con AHAI, donde los autoanticuerpos dificultan la detección precisa de aloanticuerpos. Estas deficiencias incrementan los costos indirectos relacionados con complicaciones clínicas y prolongación de la estancia hospitalaria. En países como Perú, donde la infraestructura es limitada, la implementación de tecnologías moleculares podría representar una inversión inicial desafiante costo-efectiva a largo plazo. Su implementación en contextos internacionales similares <sup>(6,13)</sup>; incluyendo países latinoamericanos como Brasil, Colombia y Chile, ha demostrado beneficios clínicos y económicos significativamente.

Un estudio realizado en Brasil demostró que la implementación de PCR-SSP para la tipificación de antígenos sanguíneos redujo la incidencia de aloinmunización en un 25%, mejorando la calidad de vida de los pacientes. En Canadá, la centralización de laboratorios permitió reducir costos en un 30% relacionados con complicaciones transfusionales. En el contexto de Perú, este modelo podría adaptarse a través de la implementación de un sistema progresivo de laboratorios regionales especializados. Inicialmente, se podría priorizar hospitales de alta complejidad como puntos centrales, acompañados de capacitación de

personal y adquisición gradual de equipos. Asimismo, el establecimiento de colaboraciones público-privadas podría reducir la carga financiera y permitir una distribución equitativa de los recursos. Este enfoque considera las limitaciones logísticas y económicas actuales del sistema de salud peruano, maximizando el impacto clínico y económico a largo plazo. Estos ejemplos subrayan el potencial de las técnicas moleculares en contextos similares al peruano.

En el contexto peruano, la centralización podría comenzar con un proyecto piloto en hospitales de referencia como el Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins. Esto permitiría evaluar la factibilidad y los beneficios clínicos, utilizando alianzas público-privadas para compartir los costos iniciales de infraestructura y capacitación.

## **Seguridad transfusional en pacientes con AHAI**

### **1. Manejo Serológico de las pruebas pretransfusionales:**

Los servicios de medicina transfusional realizan pruebas pretransfusionales como la tipificación ABO - RH y la detección de anticuerpos irregulares. Los pacientes con anticuerpos positivos se someten a pruebas serológicas adicionales como la identificación de anticuerpos irregulares, prueba de antiglobulina directa (PAD) y otras en función de la complejidad de los anticuerpos presentes en el suero del paciente <sup>(31)</sup>. La hemaglutinación es la técnica estándar de oro para determinar la tipificación de glóbulos rojos, sin embargo, las limitaciones técnicas y clínicas de la inmunohematología serológica han llevado a muchos laboratorios al uso de ensayos moleculares para predecir el fenotipo de los glóbulos rojos <sup>(29)</sup>.

El manejo transfusional de pacientes con anemia hemolítica autoinmune requiere técnicas de adsorción que toman mucho tiempo y recursos, y pueden no ser efectivas en casos de autoanticuerpos de título alto <sup>(9)</sup>. La transfusión recurrente en pacientes con AIHA, produce en el tiempo eventos de aloinmunización, la compatibilidad anticipada en estos pacientes con transfusión crónica disminuiría en un 30% <sup>(30)</sup>.

### **2. Políticas de Seguridad Transfusional:**

En el 2004 el programa nacional de hemoterapia y bancos de sangre (PRONAHEBAS) del Ministerio de salud del Perú, describe normas para asegurar su aplicabilidad a todos los

establecimientos que forman parte de la red nacional. Para las pruebas pre transfusionales solo se describe que se debe realizar Prueba Cruzada Serológica y todos los Banco de Sangre tendrán un proceso para la provisión de sangre antes de completar las pruebas de compatibilidad cuando el retraso de la unidad para la transfusión pudiera ser perjudicial para el paciente <sup>(33)</sup>. No existe una política estándar en todos los servicios de transfusión para prevenir la aloinmunización y los efectos adversos asociados. Algunos servicios proporcionan sangre con antígeno compatible una vez que el paciente ya ha desarrollado un aloanticuerpo; otros sólo consideran a los antígenos con mayor frecuencia (C, E, K) en la compatibilidad y otros consideran un amplio rango de antígenos <sup>(30)</sup>.

Los métodos moleculares se han convertido en una realidad para la seguridad de las transfusiones de sangre, especialmente para pacientes con anemia hemolítica autoinmune <sup>(34)</sup>. Las técnicas de genotipificación de glóbulos rojos para pacientes con AHAI, ayudan a seleccionar unidades antígeno compatible que tienen un alto riesgo de aloinmunización y requieren múltiples transfusiones; sin necesidad de realizar procedimientos dificultosos, costosos, largos y que requieren gran cantidad de muestra <sup>(7)</sup>. Mediante la genotipificación de glóbulos rojos y un sistema interconectado desde el Centro de Referencia se puede consultar el almacén de unidades antígeno negativo, evitando la necesidad de realizar exámenes de detección serológicos y disminuyendo el tiempo de entrega de concentrado de hematíes en pacientes con necesidad transfusional <sup>(35)</sup>. La genética juega un papel central en la investigación y la práctica de las transfusiones, el reconocer la necesidad de asegurar la compatibilidad entre donantes y receptores ha llevado a buscar un alto grado de seguridad, por lo que las transfusiones de sangre se convirtieron en uno de los procedimientos médicos más comunes <sup>(36)</sup>.

### **3. Riesgo transfusional:**

La exposición a antígenos extraños de glóbulos rojos puede inducir a la aloinmunización. A pesar de las actuales políticas de detección de anticuerpos ABO/Rh D, las reacciones hemolíticas potencialmente mortales resultantes de aloanticuerpos previamente inducidos todavía puede complicar las transfusiones de glóbulos rojos <sup>(37)</sup>. La probabilidad de que un individuo produzca anticuerpos anti-eritrocitarios es de 2.2% por unidad de sangre transfundida, y en pacientes con transfusión crónica de 7.7% <sup>(37)</sup>.

La inducción de aloanticuerpos por exposición a glóbulos rojos genéticamente diferentes complica la compatibilidad de grupos sanguíneo, la matriz de medicina transfusional (TM-Array) podría convertirse en una herramienta de diagnóstico clínico, para estudiar los trastornos relacionados con las transfusiones de sangre, ya que ha sido diseñado con 16.000 participantes de diferentes grupos étnicos con 879.000 SNPs y ha detectado más del 99% de los SNP de los genes de los grupos sanguíneos ABO, MNS, y RHD/RHCE (36).

El genotipado molecular ayuda a genotipar antígenos de grupos sanguíneos de pacientes con múltiples transfusiones para proporcionar sangre de un donante al paciente después de estudiar el perfil de antígeno extendido para prevenir la aloinmunización <sup>(11)</sup>.

## **CONCLUSIONES**

La genotipificación es una herramienta precisa para la tipificación de antígenos sanguíneos, reduciendo significativamente la tasa de aloinmunización en pacientes con Anemia Hemolítica Autoinmune y aquellos con enfermedades crónicas que requieren transfusiones constantes. Al conocer el genotipo del paciente y del donante, es posible seleccionar sangre compatible con mayor rapidez y menor costo operativo, mejorando así la calidad de la atención transfusional.

La tipificación molecular complementa de manera invaluable a los métodos serológicos al proporcionar información detallada sobre antígenos sanguíneos específicos que las pruebas tradicionales no pueden detectar. Esta combinación de técnicas incrementa la precisión en la identificación de compatibilidad sanguínea y previene eventos de aloinmunización mediante la compatibilidad temprana.

Si bien los costos asociados con las técnicas moleculares han sido una barrera en nuestro país, la experiencia internacional demuestra que la centralización de laboratorios y la optimización de procesos pueden convertir estas inversiones en estrategias costo-efectivas a largo plazo. Países como Brasil y Canadá han demostrado que estas medidas reducen significativamente los costos operativos y clínicos mientras mejoran la seguridad transfusional.

La centralización de los servicios de tipificación molecular en Perú sería una solución clave



para superar barreras económicas y logísticas. Esta estrategia permitiría procesar grandes volúmenes de muestras de manera eficiente, amortizando la inversión inicial y optimizando el uso de recursos. La creación de laboratorios de inmunohematología de referencia en las principales regiones del país podría garantizar la disponibilidad de estas pruebas avanzadas, beneficiando tanto a hospitales como a pacientes y elevando los estándares de atención médica en general.

Para abordar los desafíos actuales, se recomienda implementar un modelo de centralización progresiva de laboratorios especializados en inmunohematología molecular. Este enfoque permitiría reducir costos a nivel nacional mediante economías de escala, asegurando que los beneficios clínicos y económicos se distribuyan de manera equitativa en todo el sistema de salud peruano. Con estas medidas, el país podría no solo mejorar la seguridad transfusional, sino también transformar el manejo de los recursos sanitarios hacia una atención más eficiente, equitativa y sostenible.

PUBLICACIÓN ANTICIPADA

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Toro-Espinosa LA, Jaramillo-Arbelaez PE. Characterization of autoimmune hemolytic anemia and usefulness of the monospecific direct antiglobulin test for diagnosis. *Rev Hematol* [Internet]. 2020 [citado 10 de abril de 2023];24(2):55–64. Disponible en: <http://revistahematologia.com.ar/index.php/Revista/article/view/246>
2. Hill QA, Stamps R, Massey E, Grainger JD, Provan D, Hill A, et al. Guidelines on the management of drug-induced immune and secondary autoimmune, haemolytic anaemia. *Br J Haematol*. 2017;177(2):208–20. doi:10.1111/bjh.14654
3. Chaudhary RK, Das SS. Autoimmune hemolytic anemia: From lab to bedside. *Asian J Transfus Sci* [Internet]. 2014;8(1):5–12. doi: 10.4103/0973-6247.126681
4. Zhu Z, Ye L, Li Q, Gao H, Tan Y, Cai W. Red Cell Immunohematology Research Conducted in China. *Transfus Med Rev*. 2017;31(2):102–6. doi: 10.1016/j.tmr.2016.11.004
5. Castilho L. La trayectoria de la inmunohematología eritrocitaria y su actualidad. *Rev Mex Med Transfusional*. 2022;14(S1):s11-12. doi: 10.35366/107011
6. Wolf J, Blais-Normandin I, Bathla A, Keshavarz H, Chou ST, Al-Riyami AZ, et al. Red cell specifications for blood group matching in patients with haemoglobinopathies: An updated systematic review and clinical practice guideline from the International Collaboration for Transfusion Medicine Guidelines. *Br J Haematol*. 2025; 206(1):94-108. doi: 10.1111/bjh.19837
7. El Kenz H, Efira A, Le PQ, Thiry C, Valsamis J, Azerad MA, et al. Transfusion support of autoimmune hemolytic anemia: how could the blood group genotyping help? *Transl Res*. 2014;163(1):36–42. doi: 10.1016/j.trsl.2013.09.007
8. Tormey CA, Hendrickson JE. Transfusion-related red blood cell alloantibodies: induction and consequences. *Blood*. 2019;133(17):1821–30. doi: 10.1182/blood-2018-08-833962

9. Fasano RM, Chou ST. Red Blood Cell Antigen Genotyping for Sickle Cell Disease, Thalassemia, and Other Transfusion Complications. *Transfus Med Rev.* 2016;30(4):197–201. doi: [10.1016/j.tmr.2016.05.011](https://doi.org/10.1016/j.tmr.2016.05.011)
10. Tournamille C. Les technologies de biologie moléculaire en immunohématologie. *Transfus Clin Biol.* 2013;20(2):72–9. doi: [10.1016/j.tracli.2013.02.012](https://doi.org/10.1016/j.tracli.2013.02.012)
11. Gorakshakar A, Gogri H, Ghosh K. Evolution of technology for molecular genotyping in blood group systems. *Indian J Med Res.* 2017;146(3):305–15. doi: [10.4103/ijmr.ijmr\\_914\\_16](https://doi.org/10.4103/ijmr.ijmr_914_16)
12. Lopes MGM, Recktenwald SM, Simionato G, Eichler H, Wagner C, Quint S, et al. Big Data in Transfusion Medicine and Artificial Intelligence Analysis for Red Blood Cell Quality Control. *Transfus Med Hemother.* 2023;50(3):163–73. doi: [10.1159/000530458](https://doi.org/10.1159/000530458)
13. Raos M, Lukic M, Pulanic D, Vodanovic M, Cepulic BG. The role of serological and molecular testing in the diagnostics and transfusion treatment of autoimmune haemolytic anaemia. *Blood Transfus.* 2022;20(4):319–28. doi: [10.2450/2021.0235-21](https://doi.org/10.2450/2021.0235-21)
14. Chen C, Wang L, Han B, Qin L, Ying B. Autoimmune hemolytic anemia in hospitalized patients: 450 patients and their red blood cell transfusions. *Medicine (Baltimore)* . 2020;99(2):e18739. doi: [10.1097/md.00000000000018739](https://doi.org/10.1097/md.00000000000018739)
15. Ministerio de Salud del Perú. Resolución Ministerial N° 1075-2019/MINSA [Internet]. 2019. Disponible en: <https://shorturl.at/Qu550>
16. Mautino Allauca J. Enfermedades asociadas a la Anemia Hemolítica Autoinmune y su prevalencia en pacientes atendidos en el Hospital Nacional Dos de Mayo Enero- Noviembre 2017 [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2018 [citado 10 de abril de 2023]; Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12672/8052>
17. Michel M. Classification and therapeutic approaches in autoimmune hemolytic anemia: an update. *Expert Rev Hematol.* 2011;4(6):607–18.: doi: [10.1586/ehm.11.60](https://doi.org/10.1586/ehm.11.60)

18. Cortés A, Muñiz E, León de González G. Inmunohematología básica y aplicada [Internet]. Primera edición. Grupo Cooperativo Iberoamericano de Medicina Transfusional. Impresora Feriva S.A: Santiago de Cali, Colombia; 2014 [citado 8 de junio de 2022]. 512 p. Disponible en: <https://shorturl.at/Murzp>
19. Liebman HA, Weitz IC. Autoimmune Hemolytic Anemia. *Med Clin North Am.* 2017;101(2):351–9. doi:[10.1016/j.mcna.2016.09.007](https://doi.org/10.1016/j.mcna.2016.09.007)
20. Gabbard AP, Booth GS. Cold Agglutinin Disease: *Clin Hematol Int .* 2020;2(3):95: doi: [10.2991/chi.k.200706.001](https://doi.org/10.2991/chi.k.200706.001)
21. Shanbhag S, Spivak J. Paroxysmal Cold Hemoglobinuria. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2015;29(3):473–8. doi: [10.1016/j.hoc.2015.01.004](https://doi.org/10.1016/j.hoc.2015.01.004)
22. Wasnik M, Lahare S, Jagzape T, Chandrakar R. Blood group discrepancy in mixed-type autoimmune hemolytic anemia in a pediatric patient. *Asian J Transfus Sci.* 2021;15(2):247. doi: [10.4103/ajts.ajts\\_74\\_19](https://doi.org/10.4103/ajts.ajts_74_19)
23. Boccoz SA, Fouret J, Roche M, Lachuer J, Legras-Lachuer C, Corgier BP, et al. Massively parallel and multiplex blood group genotyping using next-generation-sequencing. *Clin Biochem.* 2018; 60:71–6. doi: [10.1016/j.clinbiochem.2018.07.010](https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2018.07.010)
24. Montemayor C, Brunker PAR, Keller MA. Banking with precision: transfusion medicine as a potential universal application in clinical genomics. *Curr Opin Hematol.* 2019;26(6):480–7. doi: [10.1097/moh.0000000000000536](https://doi.org/10.1097/moh.0000000000000536)
25. Quirino MG, Colli CM, Macedo LC, Sell AM, Visentainer JEL. Methods for blood group antigens detection: cost-effectiveness analysis of phenotyping and genotyping. *Hematol Transfus Cell Ther.* 2019;41(1):44–9. doi: [10.1016/j.htct.2018.06.006](https://doi.org/10.1016/j.htct.2018.06.006)
26. Carter JH, Flegel WA. Red Cell Transfusions in the Genomics Era. *Semin Hematol.* 2019;56(4):236–40. doi: [10.1053/j.seminhematol.2019.11.001](https://doi.org/10.1053/j.seminhematol.2019.11.001)
27. Wu PC, Pai SC, Chen PL. Blood group genotyping goes next generation: featuring ABO, RH and MNS. *ISBT Sci Ser.* 2018;13(3):290–7. doi: [10.1111/voxs.12426](https://doi.org/10.1111/voxs.12426)

28. Zuo Q, Duan Y, Wang B, Xu H, Wu W, Zhao J, et al. Genomic analysis of blood samples with serologic ABO discrepancy identifies 12 novel alleles in a Chinese Han population. *Transfus Med.* 2020;30(4):308–16. doi: [10.1111/tme.12686](https://doi.org/10.1111/tme.12686)
29. Menegati SFP, Santos TD, Macedo MD, Castilho L. Discrepancies between red cell phenotyping and genotyping in daily immunohematology laboratory practice. *Transfus Apher Sci.* 2020;59(1):102585. doi: [10.1016/j.transci.2019.06.020](https://doi.org/10.1016/j.transci.2019.06.020)
30. Kacker S, Ness PM, Savage WJ, Frick KD, Shirey RS, King KE, et al. Cost-effectiveness of prospective red blood cell antigen matching to prevent alloimmunization among sickle cell patients. *Transfusion.* 2014;54(1):86–97. doi: [10.1111/trf.12250](https://doi.org/10.1111/trf.12250)
31. Mazonson P, Efrusy M, Santas C, Ziman A, Burner J, Roseff S, et al. The HI-STAR study: resource utilization and costs associated with serologic testing for antibody-positive patients at four United States medical centers. *Transfusion.* 2014;54(2):271–7. doi: [10.1111/trf.12176](https://doi.org/10.1111/trf.12176)
32. Pirenne F, Floch A, Habibi A. How to avoid the problem of erythrocyte alloimmunization in sickle cell disease. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2021;2021(1):689–95. doi: [10.1182/hematology.2021000306](https://doi.org/10.1182/hematology.2021000306)
33. Ministerio de Salud del Perú. Sistema de gestión de la calidad del PRONAHEBAS: Criterios de Calidad. [Internet]. NT N<sup>a</sup> 012-2004/MINSA/DGSP-V.01. Disponible en: <https://shorturl.at/s08FK>
34. Bonet Bub C, Castilho L. ID CORE XT as a tool for molecular red blood cell typing. *Expert Rev Mol Diagn.* 2019;19(9):777–83. doi: [10.1080/14737159.2019.1656529](https://doi.org/10.1080/14737159.2019.1656529)
35. Flegel WA, Gottschall JL, Denomme GA. Integration of red cell genotyping into the blood supply chain: a population-based study. *Lancet Haematol.* 2015;2(7):e282–8. doi: [10.1016/s2352-3026\(15\)00090-3](https://doi.org/10.1016/s2352-3026(15)00090-3)
36. Guo Y, Busch MP, Seielstad M, Endres-Dighe S, Westhoff CM, Keating B, et al. Development and evaluation of a transfusion medicine genome wide genotyping array. *Transfusion.* 2019;59(1):101–11. doi: [10.1111/trf.15012](https://doi.org/10.1111/trf.15012)

37. Evers D, Middelburg RA, de Haas M, Zalpuri S, de Vooght KMK, van de Kerkhof D, et al. Red-blood-cell alloimmunisation in relation to antigens' exposure and their immunogenicity: a cohort study. *Lancet Haematol.* 2016;3(6):e284–92. doi: [10.1016/s2352-3026\(16\)30019-9](https://doi.org/10.1016/s2352-3026(16)30019-9)

