

Número 20 ■ Abril de 2006

BOLETÍN
del Grupo Cooperativo
Iberoamericano de
Medicina Transfusional
GCIAMT



Edición y Distribución
para Hispanoamérica

 **GAMBRO**

Tabla de Contenidos del Boletín N° 20

- Pag 2** Tabla de contenidos
- Pag 3** Junta Directiva 2005-2007, comités
- Pag 5** Editorial: El Estudio Episangre, Dr. José Ramiro Cruz
- Pag 9** Reorganización del Servicio Nacional de Sangre, Dr. John Bárbara
- Pag 13** Detección y Cuantificación de Autoanticuerpos en los Hematíes de Pacientes con Anemia Hemolítica Autoinmune con Prueba de Coombs Negativa.
Dr. Antonio A. Bencomo Hernández
- Pag 21** Guía o Instrucciones para los autores

GCIAMT

Junta Directiva 2005 - 2007

Presidente: Dra. Ana del Pozo (Argentina)

Vicepresidenta: Dr. Miguel Angel Rodríguez (Costa Rica)

Secretaria: Dra. Graciela León (Venezuela)

Tesorera: Dra. Elida Di Ciaccio (Argentina)

Vocales:

Dr. Jesús Linares (Presidente saliente) (Venezuela)

Dra. Elizabeth Vinelli (Honduras)

Dr. Ernesto Manrique (Perú)

Dr. Ewald Schmee (Argentina)

Dr. José Ramiro Cruz (Representante de la OPS)

Dr. Mauricio Beltrán (Colombia)

Dra. Miriam Juárez (Guatemala)

Miembros Benefactores:

Gambro

Baxter

Johnson and Johnson

Comités

Comité de Admisión:

Coordinadora: Dra. Graciela León (Venezuela)

Dra. Regina Bolaños (Guatemala)

Dr. Sergio Jaramillo (Colombia)

Comité de Finanzas:

Coordinadora: Dra. Elida Di Ciaccio (Argentina)

Dra. Nelly Vásquez de Martínez (Venezuela).

Dr. Daniel Romero (México)

Dr. Jorge Chávez (Costa Rica)

Comité Asesor de la Junta Directiva:

Coordinador: Dr. Jesús Linares (Venezuela)

Dr. Bernardo Camacho (Colombia)

Dr. Antonio Marín (México)

Comité de Ética:

Por el Comité Asesor:

Dr. Jesús Linares (Venezuela)

Dr. Bernardo Camacho (Colombia)

Por la Junta Directiva:

Dra. Elizabeth Vinelli (Honduras)

Por los miembros:

Dra. Carmen Martín-Vega

Dr. Roberto Del Castillo

Comité Editorial y Publicaciones:

Coordinadora: Dra. Malhi Cho (Paraguay)

Dra. Ana del Pozo (Argentina)

Dra. Eva Calderón (México)

Dr. Benjamín Lichtiger (EEUU)

Dr. Jesús Linares (Venezuela)

Dr. German Leparç (EEUU)

Dr. Bernardo Camacho (Colombia)

Dr. Oscar Ravinovich (Argentina)

Lic. Flavia Cimillo (Argentina)

Dra. Elizabeth Vinelli (Honduras)

Dra. Araceli Malagón (México)

Dr. Oscar Echeverría (Paraguay)

Comité de Educación Continua:

Coordinadora: Dra. Marina Gudiño (EEUU)

Dr. Eduardo Muñoz-Díaz

Dra. Ana del Pozo (Argentina)

Dra. Silvina Kuppeman (Argentina)

Dr. José Magariños (Argentina)

Dra. Graciela León (Venezuela)

Dra. Amalia Bravo (México)

Dra. Christiane Saltiel (Venezuela)

Dra. Miriam Juárez (Guatemala)

Dr. Arfilio Mora (Venezuela)

Dr Luiz Amorim

EDITORIAL

El estudio EPISANGRE

Una experiencia multipaís encaminada a mejorar la seguridad transfusional.

Dr. José Ramiro Cruz

Asesor Regional de Servicios de Sangre.

Organización Panamericana de la Salud.

525 23rd St. NW, Washington DC. 20037. EEUU.

Introducción

En 1999, la Organización Panamericana de la Salud (OPS), después de consultar con los Programas Nacionales de Sangre de los países de Latino América y con los Directores de los Bancos de Sangre del Caribe de habla no hispana, preparó el plan de acción para mejorar la seguridad de la sangre para transfusiones en la Región de las Américas 1999-2001 (1). El plan contenía cuatro resultados esperados:

1. Alcanzar el 100% del tamizaje de las unidades de sangre para marcadores de VIH, hepatitis B y C y sífilis en todos los países, y T. cruzi en los países del continente Latino Americano.
2. Lograr la participación de todos los bancos de sangre que hicieran tamizaje en programas de evaluación externa del desempeño de las pruebas.
3. Colectar el 50% de las unidades de donantes voluntarios, altruistas y no remunerados.
4. Identificar y seguir a grupos de pacientes de alto riesgo para infecciones transmitidas por transfusión (ITT) con el objeto de determinar la incidencia de infecciones por el virus de la hepatitis C.

El plan de acción fue aprobado por el Consejo Directivo de la OPS en octubre de 1999 y sometido a la consideración de la Fundación Bill y Melinda Gates, quien lo aprobó e hizo una donación a OPS, a través de la Fundación Panamericana para la Salud y Educación (PAHEF) para realizar acciones a partir de 2001.

Debido a que los programas nacionales de sangre no estaban en capacidad para identificar y seguir pacientes de alto riesgo para ITT, la OPS decidió apoyar un estudio de investigación multicéntrico para lo que preparó un protocolo genérico y solicitó propuestas de grupos de investigación en marzo de 2002. Se recibieron propuestas de 17 grupos de investigadores y, el 15 de junio, se anunció que 10 habían sido seleccionados para llevar a cabo el trabajo (Cuadro 1). La OPS organizó un primer taller de trabajo con los investigadores principales, en Miami, del 22 al 25 de julio, para estandarizar estrategias y metodologías de trabajo, y para acordar las formas de operación de los equipos y su relación con OPS. Se acordó que el estudio incluiría pacientes poli transfundidos –aquellos que hubiesen recibido al menos 10 unidades de componentes sanguíneos, separados en al menos dos episodios de enfermedad- e incluir hepatitis B y VIH para objeto de comparación. El tamaño de la muestra se fijó en 500 individuos.

El reclutamiento de pacientes se inició en noviembre de 2002. Serge Xueref, Oficial Profesional Asociado asignado a OPS por el gobierno de Francia, hizo visitas de campo a los 10 grupos de investigadores para apoyarlos en la recolección y manejo de datos y, en un taller realizado en Managua en mayo de 2003, se entregó a cada grupo la estrategia de validación y análisis de datos, desarrollada con la participación de Oscar Mujica de OPS. Los análisis de laboratorio fueron validados por un

programa de control de calidad que incluyó la evaluación externa realizada por Q-Panel de Brasil. En febrero de 2004 se tuvo la reunión final para analizar los logros y acordar la política de publicación de los resultados, que se siguieron obteniendo hasta julio de 2004. La OPS negoció la publicación de un suplemento del Journal of Clinical Virology que incluyera artículos de cada uno de los países y, en diciembre de 2005, se publicaron siete artículos (2-8) que resumen los hallazgos principales en cada uno de los países. Esos artículos, más los informes finales proporcionados a OPS por los grupos de México (9) y Nicaragua (10), son la base para este resumen sobre hepatitis C.

Observaciones principales.

Los nueve grupos de investigadores que completaron la investigación estudiaron 3499 pacientes: 662 personas que viven con hemofilia (PLH), 498 pacientes sometidos a diálisis (DIAL), 309 individuos con hemoglobinopatías (HbP), 1561 pacientes oncológicos (ONCO) y 469 que necesitaron transfusiones por haber tenido sangrado agudo (HEMO).

La prevalencia de infección por VHC, determinada por presencia de anticuerpos contra el virus, en los pacientes estudiados en los nueve países varió entre 7.8% en Honduras y 54.3 % en Nicaragua. En total, 701 (20.0%) de todos los pacientes mostró anticuerpos contra el VHC. El grupo de PLH presentó la mayor tasa de positividad, 49.3%, seguido de DIAL con 32.9% y de HbP con 25.2%; 4.1% de los pacientes que tuvieron sangrado agudo y 7.3% de los de ONCO tenían anticuerpos contra VHC. Las tasas de infección por VHB, 14.5% y 2.1%, respectivamente, fueron más bajas en los 3499 pacientes.

En todos los países, a excepción de Cuba, las PLH mostraron las tasas de prevalencia más altas (Cuadro 3). Análisis estadísticos demostraron que las transfusiones de sangre podrían ser el factor más importante para infectarse con HCV, no solo porque a mayor número de transfusiones se encontró mayor tasa de prevalencia, sino porque el 11.9% de PLH que empezó a recibir transfusiones después de que se alcanzó el 95% de tamizaje en sus países resultó ser positivo, en comparación con 58.0% de PLH que recibieron sus transfusiones antes de ese año.

Con excepción de Cuba, el factor más importante asociado con infección HCV fue la transfusión de sangre. El mayor riesgo se encontraron en aquellos pacientes que recibieron transfusiones antes del año en que se implementara el tamizaje para HCV en cada uno de los países. Sin embargo, la reducción en el riesgo no fue de la misma magnitud (Cuadro 4) lo que indica que el tamizaje es un factor importante para reducir el riesgo de ITT pero no el único y que, la calidad de los donantes y de los procesos de análisis de laboratorio contribuye sustancialmente.

Las infecciones por el VHC son más frecuentes que aquellas por VHB y VIH en pacientes que han recibido múltiples transfusiones, lo que coincide con las estimaciones hechas en base a la cobertura del tamizaje y la prevalencia de anticuerpos entre los donantes de sangre (11, 12). La seguridad de la sangre en Latino América se mejorará solo si los sistemas nacionales de sangre se modifican de tal manera que se alcance el 100% de donación voluntaria altruista y se establezcan programas de garantía de calidad en los centros procesadores de sangre (13).

Cuadro 1. Investigadores participantes en el estudio EPISANGRE.

País	Investigador principal	Institución
Argentina	Ana del Pozo	Hospital Nacional de Pediatría Dr JP Garrahan, Buenos Aires
Bolivia	Mario Luís Tejerina	Programa Nacional de Sangre, La Paz.
Brasil	Eric V. de Paula	Universidad Estatal de Campinas, Campinas
Colombia	Mauricio Beltrán	Instituto Nacional de Salud, Bogotá
Cuba	José María Ballester	Instituto de Hematología e Inmunología, La Habana
Honduras	Elizabeth Vinelli	Cruz Roja Hondureña, Comayagüela
México	Gloria Calderón Rodríguez	Centro Médico La Raza, Instituto Mexicano del Seguro Social, México DF
Nicaragua	René Berrios	Cruz Roja Nicaragüense, Managua
Perú	Alberto Laguna-Torres	Centro Naval de Investigación Médica, Lima
Uruguay	Lilia López	Hospital de Clínicas, Montevideo

Cuadro 2. Número de pacientes poli transfundidos incluidos en los estudios, por país y por diagnóstico clínico.

PAIS	PLH	DIAL	HbP	ONCO	HEMO	TOTAL
ARG	96	5	35	309	54	499
BRA	28	23	97	186	19	353
COL	90	82	14	236	78	500
CUB	83	90	66	77	2	318
HON	63	71	50	261	57	502
MEX	41	89	7	145	18	300
NIC	102	0	35	127	3	267
PER	84	74	0	102	91	351
URU	75	64	5	118	147	409
TOTAL	662	498	309	1561	469	3499

Cuadro 3. Prevalencia de infección por HCV en los pacientes transfundidos, por país y por diagnóstico clínico.

PAIS	PLH	DIAL	HbP	ONCO	HEMO	TOTAL	%
ARG	41/96	0/5	2/35	2/309	2/54	47/499	9.4
BRA	18/28	3/23	33/97	5/186	0/19	59/353	16.7
COL	29/90	5/82	1/14	8/236	2/78	45/500	9.0
CUB	49/83	86/90	14/66	15/77	0/2	164/318	51.6
HON	17/63	7/71	1/50	11/261	3/57	39/502	7.8
MEX	19/41	14/89	1/7	7/145	0/18	41/300	13.7
NIC	61/102	0	26/35	57/127	1/3	145/267	54.3
PER	47/84	45/74	0	9/102	8/91	109/351	31.1
URU	45/75	4/64	0/5	0/118	3/147	52/409	12.7
TOTAL	326/662 (49.3%)	164/498 (32.9%)	78 /309 (25.2%)	114/1561 (7.3%)	19 /469 (4.1%)	701/3499 (20.0%)	20.0

Cuadro 4. Relación de prevalencias (OR) en relación con el año en que se implementó el tamizaje para hepatitis C.

PAÍS	AÑO DE TAMIZAJE	OR
Argentina	1993	78.8
México	1993	22.8
Colombia	1995	10.1
Perú	1996	5.6

Referencias.

1. Pan American Health Organization. Final Report. Retreat on Blood Safety, Antigua Guatemala 18-20 October 1999. PAHO/HSP/HSE-LAB/01.2000.
2. Remesar M, Gamba C, Kuperman S, et al. 2005. Antibodies to hepatitis C and other viral markers in multi-transfused patients from Argentina. *J Clin Virol* 34 (Suppl 2): S20-S26.
3. de Paula EV, Goncales NSL, Xueref S et al. 2005. Transfusion-transmitted infections among multi-transfused patients in Brazil. *J Clin Virol* 34 (Suppl 2): S27-S32.
4. Beltrán M, Navas M-C, De la Hoz, F et al. 2005. Hepatitis C virus seroprevalence in multi-transfused patients in Colombia. 20005. *J Clin Virol* 34 (Suppl 2): S33-S38.
5. Ballester JM, Rivero RA, Villaescusa R et al. 2005. Hepatitis C virus antibodies and other markers of blood-transfusion-transmitted infection in multi-transfused Cuban patients. *J Clin Virol* 34 (Suppl 2):S39-S46.
6. Vinelli E and Lorenzana I. 2005. Transfusion-transmitted infections in multi-transfused patients in Honduras. *J Clin Virol* 34 9Suppl 2): S53-S60.
7. Laguna-Torres VA, Pérez-Bao J, Chauca G, et al. 2005. Epidemiology of transfusion-transmitted infections among multi-transfused patients in seven hospitals in Perú. *J Clin Virol* 34 (Suppl 2):S61-S68.
8. López L, López P, Arago A, et al. 2005. Risk factors for hepatitis B and C in multi-transfused patients in Uruguay. *J Clin Virol* 34 (Suppl 2): S69-S74.
9. Calderón GM, González Velázquez F, Novelo Garza B, et al. 2005. Risk factors and prevalence of HCV, HBV and HIV in multiple transfusion recipients in Mexico. Report submitted to PAHO.
10. Berríos R, Jiménez EV. 2005. Prevalencia de Hepatitis C y otras infecciones transmisibles por transfusión en pacientes multitransfundidos en Nicaragua. Informe final enviado a OPS.
11. Schmunis GA, Zicker F, Cruz JR, Cuchi P. 2001. Safety of the blood supply for infectious diseases in Latin American countries, 1994-1997.
12. Schmunis GA and Cruz JR. 2005. Safety of the Blood Supply in Latin America. *Clin Microbiol Rev*, 18 (1):12-29.
13. Cruz JR. 2005. Seeking a safer blood supply. *Lancet*, 365:1463-1464.

REORGANIZACIÓN DEL SERVICIO NACIONAL DE SANGRE.

El punto de vista de un microbiólogo especializado en este campo de trabajo

Profesor John Barbara
Asesor en Microbiología del NBS,
National Transfusion Microbiology Laboratories (Laboratorio Nacional de
Microbiología de Bancos de Sangre)
National Blood Service (Servicio Nacional de Sangre)
Colindale, Londres UK

¿Por qué una reorganización?

A primera vista, pensar acerca de la reorganización de cualquier actividad a gran escala provoca inquietudes, preocupaciones y recelos considerables. Trabajar en un ambiente conocido es cómodo, hacer cosas de la manera en la que siempre las hacemos es tranquilizador y mantener el control de la propia esfera de influencia es muy atrayente. Sin embargo existen, en el plano internacional, razones específicas y generales lo suficientemente convincentes, que llevan a encarar la reorganización de una actividad nacional como lo es el servicio de transfusión de un país.

Razones generales

Además de la Directiva para garantizar la seguridad de las transfusiones sanguíneas emanada de la Unión Europea, la cual recientemente se ha convertido en ley en todos los estados miembros (que por la misma razón ejerce una influencia considerable sobre los otros países europeos), existe otras demandas. Ellas son: la necesidad de lograr una “masa crítica”, la de brindar un enfoque coherente y coordinado dentro de un país y la adquisición de la capacidad para definir y hacer cumplir los estándares mínimos y uniformes. Todas éstas son también razones poderosas en un mundo que cada vez se preocupa más por la “calidad”. El concepto de “masa crítica” se relaciona con dos áreas en particular:

1. La necesidad de todos los Bancos de Sangre de un país de acceder a la oportunidad de adquirir los conocimientos, las habilidades y la experiencia. A esto hay que agregarle la asignación del personal suficiente, debidamente capacitado para desempeñar todas las actividades actuales de un banco de sangre: gestión de calidad, gestión empresarial y la conducción del resto de las especialidades esenciales dentro de la medicina transfusional en cada establecimiento (sin superposición de actividades), lo que puede obtenerse mediante la fusión de los pequeños establecimientos en unidades más eficientes.
2. La licitación y compra centralizada de productos de especificidad absoluta, (siguiendo los criterios acordados a escala nacional) lo que puede generar la elección óptima de los productos y la obtención de precios favorables para los reactivos y los equipos.

Razones específicas relacionadas con la microbiología transfusional

Así la reorganización esté enfocada hacia un sistema completamente centralizado o hacia bancos de sangre manejados en forma individual - pero totalmente coordinados - o una combinación de

ambos, las ventajas de una cooperación y coherencia nacional en cuanto a una de las disciplinas de la Medicina Transfusional (por ejemplo: la microbiología transfusional) incluyen lo siguiente:

- Directrices uniformes para una política y una práctica correctas.
 - Procedimientos operativos estándar uniformes.
 - Procesos de control consistentes (y auditados) para las pruebas microbiológicas (incluyendo equipos comerciales de reactivos y aparatos)
 - Definición, obtención y provisión de muestras de trabajo, nacionales “estándar” (working-standard samples) para cada (1) agente microbiológico o marcador de infección transmisible por transfusión, de manera que sean incluidos en cada “corrida” diaria de ese marcador realizada en cada laboratorio. Esto se hace para asegurar niveles mínimos de calidad en el desempeño de las pruebas con cualquier kit, en cualquier día, en cualquier laboratorio y con cualquier operador.
 - Acceso a la realización del control del proceso estadístico de los resultados de las pruebas de laboratorio mencionadas, utilizando, por ejemplo, las reglas Westgard (Figura 1)
 - Vigilancia Nacional de :
 - Los resultados de las pruebas, de las prácticas y de los índices de reactividad inicial, repetida y confirmada en cada establecimiento (banco de sangre) para cada marcador de infecciones o agente microbiológico analizado.
 - Las tendencias epidemiológicas en relación con los agentes infecciosos que fueron estudiados.
- Los datos recopilados por ese medio en el nivel nacional pueden formar la base para informar regularmente al personal correspondiente de los bancos de sangre, a los cuerpos de salud pública y al ministerio de salud, a través de las publicaciones que tienen ese propósito.
- Facilitar la designación de un equipo técnico nacional de evaluación de los equipos de reactivos (kits comerciales), que tenga como objetivo evaluar los ensayos de agentes infecciosos, utilizando datos obtenidos a través de fuentes de información internacional o de evaluación experimental dentro del país. Si esto último fuera lo que se decide hacer, debido a que la evaluación debe hacerse con paneles de sero-conversión y el costo de estos paneles es muy alto, sólo sería asequible si se efectuara a escala nacional evitando así la duplicación innecesaria de esta tarea en varios establecimientos. Un ejemplo de estos grupos/equipos nacionales de evaluación es el del English National Blood Service (Servicio Nacional Inglés de Transfusión) que para la evaluación de kits de ensayos serológicos de VIH lo hace en colaboración con la English Health Protection Agency (Agencia Británica para la Protección de la Salud), antes conocida como el Central Public Health Laboratory Service (Servicio Central de Laboratorios de Salud Pública) lo que aparece en la figura 2.

La figura 3 ilustra una opción para acceder a un análisis profundo, detallado y periódico, de la realización práctica de las pruebas en los diferentes laboratorios del país. En el Reino Unido, los resultados, obtenidos en cada laboratorio, de las pruebas con la muestra nacional “estándar” de trabajo, para cada agente infeccioso, son enviados al National Institute for Biological Standards and Control (Instituto Nacional de Control y Estándares Biológicos). Estos resultados son graficados como porcentajes de desvío (por ejemplo: la desviación obtenida por un laboratorio dado, con respecto a la media obtenida a partir de los resultados de todos los laboratorios) versus el coeficiente de variación de los resultados de ese laboratorio. El tamaño de la “burbuja” para cada laboratorio (enumerado), está relacionado a la cantidad de resultados enviados. Las “burbujas” dentro del cuadro pequeño, son consideradas óptimas; cualquier burbuja que esté dentro del cuadro exterior, es adecuada, pero ese laboratorio deberá implementar acciones correctivas para mejorar su desempeño. Aquellas burbujas que estén por fuera de la caja más grande (outer box), son inadecuadas y por lo tanto el laboratorio en cuestión deberá suspender la realización de las pruebas hasta que se tome una acción correctiva.

- Servicios de confirmación que estén coordinados a escala nacional (y posiblemente centralizados)

para mejorar la eficiencia) para cumplir el rol de laboratorio de referencia de Infecciones Transmisibles por Transfusión en muestras de donantes de sangre que resulten repetidamente reactivas. Un laboratorio de estas características, logrará una información más segura y uniforme de los resultados para los establecimientos que los necesitan.

- Notificación consistente a escala nacional de los donantes diferidos o de donantes en los que se ha confirmado una infección transmisible por transfusión. A esta información al sistema debe agregarse el asesoramiento médico o la entrevista médica a los donantes infectados y la derivación clínica apropiada a cada caso clínico.
- Informes y análisis a escala nacional de las infecciones post-transfusión (IPT). Después de su investigación, los casos confirmados de infecciones transmitidas por transfusión, deberían ser recopilados centralmente e informados anualmente como la base de la sección infecciones del sistema de hemovigilancia nacional (por ejemplo: UK Serious Hazards of Transfusion, SHOT; Peligros Serios de la Transfusión, PSDT, del Reino Unido).

Conclusión

La sangre a transfundir puede ser considerada como un tejido que se trasplanta y como un medicamento de uso farmacéutico, por lo tanto al obtener una unidad de sangre para la transfusión se requiere el seguimiento de los estándares más altos desde la clínica y el cumplimiento de lo que exige la farmacopea. Con el paso de los años, en la Medicina Transfusional se han exigido niveles cada vez más altos de sofisticación y de pericia, los cuales sólo pueden ser logrados de manera eficiente por medio de la creación de reservas de recursos nacionales.

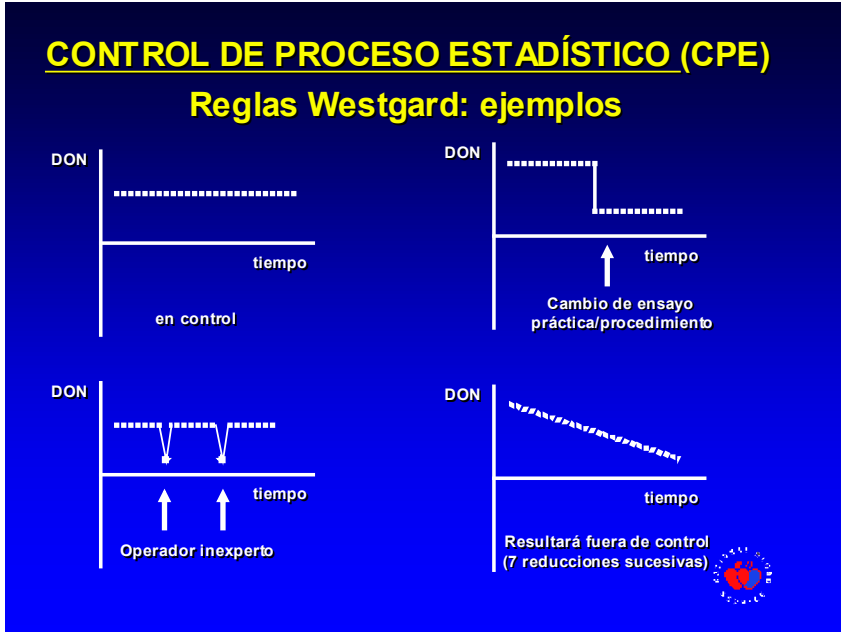
El nivel de calidad requerido también sigue creciendo, como lo ilustra el marco de calidad para la Microbiología Transfusional, resumido en la Figura 4.

En la práctica esto solamente se puede lograr con la cooperación nacional y la coordinación para lograr homogeneidad nacional.

Referencias

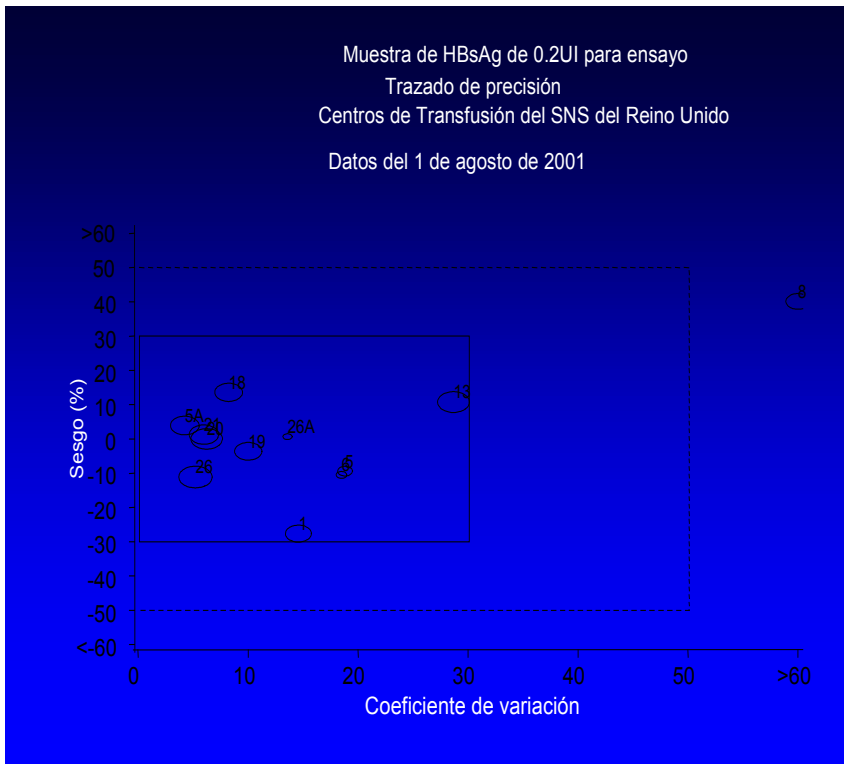
1. JA.Barbara. 1993. Aspectos sobre calidad: ¿Cuánto HBsAg hay en esta muestra? Y ¿Es nuestro ensayo lo suficientemente sensible para detectarlo? *Vox Sanguinis* 1993; 65:249-250.

Algunos ejemplos de los distintos perfiles del monitoreo en curso. Si se observa una tendencia descendente sostenida en 7 resultados consecutivos, el ensayo es considerado fuera de lo aceptado, aunque los resultados de la prueba estén por encima del nivel límite.



DON: densidad óptica normalizada (índice del resultado de la prueba: resultado límite).

Trazado de precisión para una prueba estándar de trabajo con HBsAg (posteriormente aceptada para uso rutinario). 0.2 unidades internacionales /ml aproximadamente igual a 0.2 µg/ml HBsAg



Instituto de Hematología e Inmunología

Detección y cuantificación de autoanticuerpos en los hematíes de pacientes con anemia hemolítica autoinmune con prueba de Coombs negativa.

Dr. Antonio A. Bencomo Hernández
Dra. María Elena Alfonso Valdés
Dr. Onel M. Ávila Cabrera
Dr. Juan Carlos Jaime Fagundo
Dr. Porfirio Hernández Ramírez

Resumen

Se estudiaron 18 pacientes; 15 adultos y 3 niños, con anemia hemolítica y sospecha de etiología inmune donde se observó una respuesta favorable al tratamiento con prednisona. Todos los pacientes habían mostrado resultados negativos en la prueba de antiglobulina directa e indirecta (Coombs). A las muestras de sangre se les realizó la técnica de polibreno directa (TPD), la detección de autoanticuerpos en el eluato de los hematíes en la técnica de microplacas (Mp) así como la cuantificación de autoanticuerpos asociados a los hematíes a través de un ELISA. Los pacientes investigados representaron el 13.3% del total de casos de AHAI diagnosticados en el período de estudio. La TPD detectó los anticuerpos en 5 casos (28%), la Mp resultó positiva en 11 pacientes (61%) y el ELISA demostró autoanticuerpos en todos los pacientes. El ELISA reveló la presencia de autoanticuerpos IgG en 17 casos (94,4%), de IgA en 8 pacientes (44,4%) y de IgM en un caso (5,5%). En 10 pacientes (55,5%) la cuantificación de autoanticuerpos IgG se comportó en un rango de 200 a 460 moléculas por hematíe y en el resto se obtuvieron valores superiores a 900 moléculas por hematíe. Los resultados muestran que el ELISA aplicado es particularmente útil para la detección y cuantificación de autoanticuerpos en los hematíes de los pacientes con AHAI con prueba de Coombs negativa y nos provee de un procedimiento para el diagnóstico inmunohematológico de esta identidad.

INTRODUCCIÓN

Las anemias hemolíticas autoinmunes (AHAI) se caracterizan por la destrucción, mediada por autoanticuerpos, de los eritrocitos del paciente. Los autoanticuerpos causantes del proceso hemolítico se clasifican en calientes y fríos en dependencia de la temperatura óptima de su reacción “in vitro” (1). La AHAI más frecuente se debe a la presencia de autoanticuerpos reactivos a 37°C, que constituye el 70% del total de casos (2). Debido a esto, la mayoría de los investigadores emplean el término AHAI para referirse a la ocasionada por los autoanticuerpos calientes y es la nomenclatura adoptada en este trabajo.

Dada la importancia de las inmunoglobulinas (Igs) en la hemólisis inmune, su detección es un proceder muy empleado en inmunohematología. La prueba de antiglobulina directa (PAD) o prueba de Coombs ha sido usada comúnmente para la detección de los autoanticuerpos eritrocitarios. Sin

embargo, la PAD tiene limitaciones, ya que existe una cantidad límite de anticuerpos en los hematíes por debajo de la cual la prueba resulta negativa, aunque a estas bajas concentraciones los anticuerpos son capaces de producir hemólisis (3).

Existen otros ensayos de mayor sensibilidad que las técnicas de aglutinación que se han aplicado para la detección de los autoanticuerpos eritrocitarios. Dentro de ellos se incluyen el empleo de antiglobulina marcada con radioisótopo y la citometría de flujo. Estos métodos requieren de un equipamiento costoso y en algunos casos de la utilización de compuestos radioactivos de manipulación riesgosa (3,4).

Los ensayos inmunoenzimáticos son sensibles y rápidos que pueden aplicarse en la investigación de las inmunoproteínas asociadas a los eritrocitos y en la detección de anticuerpos no revelados por las técnicas convencionales. Además de las ventajas ya expuestas, su bajo costo, la no utilización de material radioactivo y la posibilidad de cuantificar autoanticuerpos unidos a estas células, lo señalan como un método a elegir para estos estudios (5, 6).

En este trabajo comunicamos los hallazgos de la cuantificación de autoanticuerpos asociados a los hematíes en pacientes con AHAI con prueba de Coombs negativa y la factibilidad de utilizar esta determinación como prueba para el diagnóstico inmunohematológico de esta entidad

MATERIALES Y MÉTODOS

Se estudiaron 18 pacientes; 15 adultos (10 femeninos y 5 masculinos) y 3 niños (1 femenino y 2 masculinos) con anemia hemolítica de etiología desconocida y con sospecha de etiología inmune donde se observó un incremento de las cifras de hemoglobina y una disminución de los reticulocitos después del tratamiento con prednisona. El rango de edad de los pacientes adultos fue de 21 a 67 años y de 2 a 6 años en los niños. En 12 pacientes (67%) la anemia hemolítica se consideró idiopática y en el resto estuvo asociada con otras enfermedades como: 2 pacientes con hepatitis B, 2 con linfoma no-hodgkiniano, 1 con neutropenia autoinmune y uno con síndrome mielodisplásico. Los pacientes fueron seleccionados de entre los 135 casos de AHAI que fueron investigados en el Departamento de Inmunohematología del Instituto de Hematología e Inmunología en el período comprendido entre Octubre del 1995 y Septiembre del 2001.

Todos los pacientes habían mostrado resultados negativos en la prueba de antiglobulina directa (PAD) y la prueba de antiglobulina indirecta (PAI) con los sueros antiglobulínicos poliespecífico y mono-específicos (7). En todos los casos se habían descartado las hemoglobinopatías y las enzimopatías por las técnicas habituales.

A las muestras de sangre se les realizó la detección de autoanticuerpos en el eluato de los hematíes, obtenido por el método del éter (7), en la técnica de microplacas y la cuantificación de autoanticuerpos en el eluato a través de un ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la cuantificación de inmunoglobulinas en los hematíes como se describe a continuación:

Técnica de microplacas (Mp) para la detección de autoanticuerpos eritrocitarios en el eluato de los hematíes (8).

Se sensibilizó una mezcla de hematíes de donantes de sangre de grupo O y de fenotipo Rh, R1R1, R2R2 y rr, con cada uno de los eluatos de los pacientes de la siguiente forma: En tubos de cristal de 12 x 75 mm se añadieron 10µL de la mezcla de hematíes de donantes y 100µL de los eluatos, los que se incubaron a 37°C durante 1 hora. Posteriormente, los hematíes se lavaron tres veces con solución salina al 0,9% y se resuspendieron al 0,5% en solución salina. En microplacas rígidas de 96 pocillos de fondo en V (Greiner) se mezclaron, en el pocillo correspondiente, 25µL de la suspensión de los hematíes sensibilizados con 25µL de las diluciones de los reactivos antiglobulínicos mono-específicos. Los reactivos utilizados fueron: anti-IgG (Dako), anti-IgA y anti-IgM (Behring) en las diluciones 1:20, 1:40 y 1:20, respectivamente, en solución salina balanceada de fosfato 0.15 mol/L,

pH 7.2 (SSBF) que contenía suero fetal bovino al 1%. Como controles positivos se utilizaron hematíes sensibilizados con anticuerpos anti-D de los isotipos IgG, IgA y anticuerpos anti-Lea de la clase IgM y como control negativo hematíes del grupo O no sensibilizados. La placa se incubó 12 horas a 4°C y la lectura se realizó después de inclinarla en un ángulo de 45° durante 10 minutos. Se consideró un resultado positivo la presencia de un botón de hematíes en el fondo del pozo y como negativo el corrimiento de los hematíes hasta los bordes externos del pozo.

Ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la cuantificación de IgG, IgA e IgM asociadas a los hematíes (9).

La técnica se realizó en placas de poliestireno de 96 pocillos de fondo plano (Nunc, Immunoplates) que se recubrieron con 100 µl, en el pocillo correspondiente, de la fracción IgG de anticuerpos de carnero anti-IgG(γ), anti-IgA(α) o anti-IgM(μ) humano (Sigma) en una concentración de 5 µg/ml en solución balanceada de carbonato bicarbonato 0.05M a pH 9,6. Las placas se incubaron a 40 C durante 16-18 horas y fueron posteriormente lavadas 4 veces con solución salina balanceada con fosfato 0.15 mol/L pH 7.2 con tween 20 al 0.2% (SSBF-Tw). Los eluatos de los hematíes de los pacientes y la curva patrón de IgG, IgA e IgM diluídos en SSBF-Tw 0.05% con albúmina bovina al 0.4% (SSBF-Tw-A) se añadieron a razón de 100 µl por pocillo y se incubaron a 37°C durante 1 hora. Las curvas de cuantificación se prepararon a partir del suero de referencia Nor-Partigen, Behring en concentraciones desde 0.0025 a 0.07 µg/ml de IgG e IgM y de 0.0025 µg a 0.06 µg/ml de IgA. Los 4 lavados posteriores se realizaron con SSBF-Tw 0.05% y se añadieron a los pocillos apropiados 100 µl de la fracción IgG de carnero conjugado con peroxidasa(Sigma) anti-Fc de la IgG e IgM humana diluídos 1: 5000 o anti-Fc de la IgA humana diluido 1:1000 en SSBF-Tw 0.05%. Las placas se incubaron con los conjugados 1 hora a 37°C y fueron posteriormente lavadas 4 veces con SSBF-Tw 0.05%. La reacción se reveló con la adición de 100 µl por pocillo de ortofenilendiamina (Merck) a una concentración de 0.24 mg/ml en solución balanceada de ácido cítrico pH 5.0 que contenía peróxido de hidrógeno al 0.024%. La reacción se detuvo a los 15 minutos con la adición de 100 µl por pocillo de H₂SO₄ al 3M y las densidades ópticas de cada muestra en duplicado se leyeron a 492 nm en un lector de microelisa (Titertek Multiscan). Las concentraciones de Inmunoglobulinas (Igs) en los eluatos de los hematíes fueron calculadas a partir de la curva patrón a través de un ensayo de regresión lineal. El resultado se expresó como un aproximado del número de moléculas de Igs por hematíe con el uso del número de Avogadro y del peso molecular de la IgG o IgA (160,000 daltons) y de la IgM (970,000 daltons). De acuerdo al número de Avogadro 1 µg contiene 370 X 10¹⁰ moléculas de IgG o IgA y 62 X 10¹⁰ moléculas de IgM. El número de moléculas de Igs por hematíe es igual a la concentración de Igs en µg/ ml del eluato multiplicado por el número de moléculas de Igs en 1µg y dividido entre el número de hematíes en 1 ml (1.1 x 10¹⁰ hematíes). Se consideró un valor positivo en el ELISA un número de moléculas por hematíe de IgG ≥ 163, de IgA ≥ 90 y de IgM ≥ 20 moléculas que corresponde con la media mas tres desviaciones estandar de los valores obtenidos en los individuos normales .

Se determinó también la presencia de autoanticuerpos en los hematíes en la técnica manual de polibreno directa (TPD) de acuerdo al método siguiente:

En un tubo de cristal de 13 x 100 mm se añadió una gota de la suspensión al 3% en solución salina 0.9% de los hematíes del paciente, 2 gotas de suero autólogo y 1 ml del medio de baja fuerza iónica de dextrosa-EDTA. La mezcla se incubó durante 1 minuto a temperatura ambiente. Después se añadieron 2 gotas de una solución al 0.05% en solución salina al 0.9% de polibreno (Sigma) y se incubó durante 30 segundos. Posteriormente se centrifugó a 150 g durante 30 segundos y se decantó el sobrenadante. La primera lectura de la aglutinación se realizó después de añadir 2 gotas de la solución de resuspensión de citrato-dextrosa. Posteriormente se añadieron 2 gotas adicionales de la solución de resuspensión y se realizaron 3 lavados de los hematíes con solución salina para la lectura en la fase de antiglobulina con el uso del suero antiglobulínico anti-IgG (10).

A todos los pacientes se les realizó la cuantificación sérica de IgG, IgA e IgM por la técnica de inmunodifusión radial simple (11).

RESULTADOS

Los 18 pacientes estudiados con AHAI Coombs negativa representaron el 13.3% de los 135 casos de AHAI diagnosticados en el período en que se realizó la investigación.

Los tres procedimientos técnicos empleados detectaron anticuerpos eritrocitarios que no fueron revelados en la PAD. La TPD detectó los anticuerpos en 5 casos (28%), la Mp resultó positiva en 11 pacientes (61%) y el ELISA demostró un aumento del número de moléculas de Igs por eritrocito en todos los pacientes (Tabla 1). Este último ensayo reveló la presencia de anticuerpos de la clase IgG en 17 casos (94,4%), de la clase IgA en 8 pacientes (44,4%) y de la clase IgM en un caso (5,5%) (Tabla 2). En todos los casos se evidenció hemoglobinemias, reticulocitosis e hiperbilirrubinemia.

En 10 pacientes (55,5%) la cuantificación de IgG asociada a los eritrocitos se comportó en un rango de 200 a 460 moléculas por hematíe (casos 1,3, 6, 9, 10, 11, 12, 13, 15,17). En el resto se obtuvieron valores superiores a 900 moléculas de IgG por hematíe (Tabla 2)

En todos los pacientes la cuantificación de Igs en el suero se encontró dentro de los valores normales. En los niños se obtuvieron valores de cuantificación sérica de IgG en un rango de 6.13 a 10.24 g/L, de IgA de 0.92 a 2.17g/L y de IgM de 0.3 a 1.10 g/L. En los adultos la cuantificación sérica de IgG se comportó entre 9.65 - 15.0 g/L, de IgA entre 2.36- 4.25g/L y de IgM entre 0.5 - 1.3g/L.

DISCUSIÓN

Es bien conocido que en algunos pacientes con evidencias clínicas de hemólisis inmune no se detectan anticuerpos eritrocitarios por los métodos convencionales (2).

Este estudio documenta los hallazgos inmunohematológicos en 18 pacientes con AHAI y prueba de Coombs negativa que constituyeron el 13.3% de todas los casos de AHAI diagnosticados en el período en que se efectuó la investigación. Estos resultados son similares a los de otros autores, que comunican una frecuencia de un 10 % de pacientes con AHAI con PAD negativa (12,13).

El hallazgo de una PAD negativa en la AHAI se asocia a diferentes causas inherentes a la realización de esta prueba, por lo que es necesario el empleo de técnicas de mayor sensibilidad, como la citometría de flujo, la prueba de polibreno directa y el ELISA para detectar los autoanticuerpos eritrocitarios causantes de la hemólisis (7).

Nuestros resultados sugieren el empleo del ELISA para estos fines ya que reveló la presencia de los autoanticuerpos en todos los pacientes.

Un estudio previo con la introducción de un inmunoensayo, que detecta las Igs directamente sobre los eritrocitos, encontró un incremento de la IgG asociada a los hematíes en el 40% de los casos (14). Sokol et al (15), con la aplicación también de un ELISA directo demostró una asociación entre la presencia de bajas concentraciones de IgG, IgA e IgM en los hematíes y la hemólisis autoinmune en el 75% de los pacientes con AHAI con PAD negativa.

El ensayo inmunoenzimático utilizado en este estudio es al parecer más sensible que los descritos previamente, debido probablemente a que la cuantificación de Igs se realizó a partir del eluato obtenido por el método del éter que concentra los anticuerpos y suele ser mas sensible que la detección los anticuerpos directamente en los hematíes. Por otra parte, este método permite la identificación de todos los isotipos de Igs causantes de la hemólisis en la AHAI, lo que avala este proceder en la identificación de autoanticuerpos no revelados en la PAD (9) .

La técnica de Mp es un método que también ofrece ventajas, ya que además de identificar los autoanticuerpos en el 61% de los casos, corrobora el diagnóstico al demostrar la reacción de las Igs

con los hematíes en el ensayo de antiglobulina indirecta. La ausencia de anticuerpos demostrables en este ensayo y detectados únicamente en el ELISA podría estar relacionado con un aumento de Igs asociadas a los hematíes en pacientes con hipergammaglobulinemia o con hemoglobinopatías sin hemólisis inmune (16).

Sin embargo, en la serie estudiada estas dos condiciones fueron excluidas ya que se descartaron las hemoglobinopatías y se encontraron valores de cuantificación de Igs séricas dentro de los parámetros normales en todos los casos. Estos hallazgos permiten asumir que el ELISA detectó autoanticuerpos en los hematíes de los pacientes con AHAI Coombs negativa (17).

La TPD es más sensible que la PAD para la detección de los autoanticuerpos de la clase IgG (14, 18). Aunque en nuestra casuística resultó positiva sólo en el 28% de los pacientes, debe tenerse en cuenta como una alternativa por ser una técnica fácil de realizar y por la rapidez con que se obtienen los resultados.

La presencia de autoanticuerpos de los isotipos IgA e IgM no fijadores de complemento en los hematíes puede ocasionar una PAD negativa, al no ser detectados los mismos por el suero antiglobulina humana poliespecífico, cuyos componentes principales son los anticuerpos anti-IgG y anti-C3 (19,20). Sin embargo, en los pacientes estudiados la PAD fue igualmente negativa con los reactivos mono-específicos anti-IgA y anti-IgM. Resultados similares se han comunicado en otras series en las que se empleó igual metodología para el diagnóstico inmunohematológico (2).

Aunque la mayoría de los investigadores han centrado su atención en demostrar la presencia de anticuerpos IgG en los hematíes (21-23) de los pacientes con AHAI Coombs negativa, se han encontrado también autoanticuerpos de la clase IgA e IgM involucrados en la hemólisis (10). Al respecto, Sokol et al (24) detectaron anticuerpos IgA e IgM por medio de un ELISA directo en los hematíes de 4 de los 16 pacientes con PAD negativa. Salama et al (25), demostraron autoanticuerpos IgM en los hematíes de 8 casos a través de un ensayo inmunoradiométrico. Otros autores identificaron autoanticuerpos IgA en los hematíes de este grupo de pacientes en la técnica de aglutinación en gel o por un ensayo de citometría (26).

Los resultados negativos de la prueba de Coombs en el 55,5% de los casos estudiados pueden ser atribuibles a la presencia de 200 a 500 moléculas de IgG por hematíe, que es el límite de sensibilidad de la técnica de antiglobulina (27). Sin embargo, la teoría cuantitativa no es aplicable a todos los pacientes, ya que en el resto de los casos estudiados se encontraron valores superiores a 900 moléculas de IgG por hematíe e incluso en un paciente se detectaron 48356 moléculas de IgG por célula donde la PAD debía resultar francamente positiva.

Garratty G (17) obtuvo resultados similares y plantea como teoría aún no comprobada que el hallazgo de una PAD negativa en la AHAI no es atribuible únicamente a la sensibilidad de la técnica sino que es debido también a que las moléculas de anticuerpos muestran una orientación espacial que no permite que el reactivo antiglobulínico forme puentes entre los hematíes y se produzca la aglutinación. De esta forma, los autoanticuerpos pueden ser detectados por ensayos que no dependan de la aglutinación.

Los resultados de nuestro estudio muestran que el ensayo inmunoenzimático aplicado es particularmente útil para la detección y cuantificación de autoanticuerpos en los hematíes de los pacientes con AHAI y prueba de Coombs negativa y nos provee de un procedimiento muy sensible para el diagnóstico inmunohematológico de esta identidad.

BIBLIOGRÁFICAS

1. Gehrs BC, Friedberg EC. Autoimmune hemolytic anemia. *Am J Hematol* 2002; 69: 258-71.
2. Petz LD, Garratty G. Immune hemolytic anemias. 2nd ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2004.
3. Kumpel BM, Austin EB, Lee D, Jackson DJ, Judson PA, Chapman GE. Comparison of flow cyto-

- metric assays with isotopic assays of ⁵¹chromium-labeled cells for estimation of red cell clearance or survival in vivo. *Transfusion* 2000; 70: 228–39.
4. Garratty G, Arndt PA. Applications of flow cytofluorometry to red blood cell immunology. *Cytometry* 1999; 38: 259–267.
 5. Lambin P, Debbia M, Beolet M, Brossard Y, Le Pennec PY, Rouger P. Quantitative estimation by ELISA of IgG anti-D (RH1) antibodies in immunoglobulin preparations and in the sera of immunized donors. *Transfus Clin Biol* 2001; 8: 17-22.
 6. Sokol RJ, Hudson G: Quantitation of red cell bound immunoprotein. *Transfusion* 1998; 38: 782-95.
 7. Brecher ME, ed. Technical manual. 14th ed. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks; 2002.
 8. Alfonso Y, Bencomo AA, Díaz M, Alfonso ME. Micrométodo para la detección de clases y subclases de inmunoglobulinas en el eluido de eritrocitos de pacientes con AHAI. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* 2002;18:20-6.
 9. Bencomo AA, Díaz M, Alfonso Y, Valdés O, Alfonso ME. Quantitation of red cell-bound IgG, IgA and IgM in patients with autoimmune hemolytic anemia and blood donors by enzyme-linked immunosorbent assay. *Immunohematology* 2003; 19: 47-53.
 10. Rubino M, Kavitsky DM, Nance S. Serologic testing in autoimmune haemolytic anemia (AIHA) with negative direct antiglobulin test (DAT). *Transfusion* 2002; 42: 104S
 11. Mancini G, Carbonara AO, Heremans JF. Single radial diffusion methos for the immunological quantitation of proteins. *Int Prot Biol Fluids*, 11th Colloquious. Oxford: Pergamon Press; 1964. p. 370-3.
 12. Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M. Blood transfusion in clinical medicine. 10th ed. Oxford: Blackwell Science; 1997.
 13. Garraty G. Pathophysiology of autoimmune hemolytic anemia. *AABB: Annual Meeting*; 2001: 505-511.
 14. Garraty G, Postoway N, Nance S, Brunt D. The detection of IgG on the red cells of “Coombs negative” autoimmune hemolytic anemias. *Transfusion* 1982; 22: 430.
 15. Sokol RJ, Hewitt S, Booker DJ, Stamps R. Small quantities of erythrocyte bound immunoglobulins and autoimmune haemolysis. *J Clin Pathol* 1987;40: 254-7.
 16. Garratty G. Effect of cell-bound proteins on the in vivo survival of circulating blood cells. *Gerontol* 1991; 37: 68-94.
 17. Garratty G. Factor affecting the pathogenicity of red cell auto and alloantibodies. En: Nance S, ed. *Immune destruction of red cell*. Arlington, VA: American Association of Blood Banks; 1989. p.109-169.
 18. Braga GW, Bordin JO, Moreira JG, Kuroda A. Laboratory diagnosis of auto-immune hemolytic anemia: characteristics of the manual direct test of polybrene. *Rev Assoc Med Bras* 1998;44:16-20.
 19. Case J, Ford DS, Chung A, Collins R, Kochman S, Mazda T et al. International reference reagents: antihuman globulin. *Vox Sang* 1999; 77: 121-7.
 20. Harmening DM. *Clinical Hematology and Fundamentals of Homeostasis*. 4th ed. Philadelphia, PA: F.A. Davis Company; 2001.
 21. Kondo H, Oyamada T, Mori A, Sumi H, Kurosu K, Kajii E. Direct-antiglobulin–test-negative immune haemolytic anaemia and trombocytopenia in a patients with Hodgkin´s disease. *Acta Haematol* 2001;105: 233-6.
 22. Kerr R, Rawlinson PS, Cachia PG. Direct antiglobulin test negative, non spherocytic autoimmune haemolytic anaemia. *Clin Lab Haematol* 2000; 22: 265-367.
 23. Lai M, Rumi C, D’Onofrio G, Voso MT, Leone G. Clinically significant autoimmune hemolytic

anemia with a negative direct antiglobulin test by routine tube test and positive by column agglutination method. *Immunohematology* 2002; 18:109-13.

24. Sokol RJ, Hewitt S, Booker DJ, Stamps R. Enzyme linked direct antiglobulin test in patients with autoimmune haemolysis. *J Clin Pathol* 1985; 38: 912-4.

25. Salama A, Mueller-Eckhardt C, Bhadi S. A two-stage immunoradiometric assay with 125I-staphylococcal protein A for the detection of antibodies and complement on human blood cells. *Vox Sang* 1985;48:239-45.

26. Meyer F, Garin L, Smati C, Gaspard M, Giannoli C, Rigal D. Application du gel test utilisant une antiglobuline anti-IgA au diagnostic immunologique d'anémie hémolytique auto-immune à test de Coombs direct négatif. *Transfus Clin Biol* 1999;6:221-6.

27. Gilliland BC. Blood cells: autoimmune hemolytic anemia. En: Rose NR, Mackay IR, editors. *The autoimmune diseases*: Academic Press; 1998. p. 245-68.

Tabla 1

Resultados de las técnicas de aglutinación y el ELISA en la detección de autoanticuerpos eritrocitarios en pacientes con AHAI con prueba de antiglobulina negativa.

Detección de autoanticuerpos	Técnicas					
	TPD		Mp		ELISA	
	No.	%	No.	%	No.	%
Positivo	5	28	11	61	18	100
Negativo	13	72	7	39	0	0

TPD: técnica de polibreno directa

Mp: Técnica de microplacas

Tabla 2

Hallazgos inmunohematológicos en 18 pacientes con AHAI y prueba de antiglobulina directa (Coombs) negativa.

Pacientes	Hb g/L	Ret %	B-nc μmol/L	Inmunoglobulinas			Moléculas de Igs/hematíe		
				TPD	Mp	ELISA	IgG	IgA	IgM
1	90	6.3	43	IgG	IgG	IgG	250	15	3
2	100	3.6	24	IgG	IgG	IgG, IgA	4132	173	1
3	98	3.6	63	IgG	IgG	IgG	200	50	2
4	68	5.0	28	IgG	IgG	IgG	48356	40	4
5	100	11.0	27	IgG	IgG, IgA	IgG, IgA	15231	133	3
6	78	7.0	33	0	IgG	IgG	254	44	4
7	60	6.8	55	0	IgG	IgG	3192	14	1
8	89	11.0	47	0	IgG	IgG	4500	51	4
9	75	15.0	38	0	IgG	IgG, IgA	267	372	2
10	65	10.0	45	0	IgG	IgG	225	68	2
11	100	6.7	15	0	IgG	IgG, IgA	225	122	2
12	82	11.8	14	0	0	IgG	333	37	3
13	70	5.0	27	0	0	IgG, IgA	460	119	2
14	66	6.2	33	0	0	IgG, IgA	13128	232	3
15	70	7.0	76	0	0	IgG	450	4	6
16	63	3.0	66	0	0	IgG	970	50	6
17	50	15.0	48	0	0	IgG, IgA	375	105	8
18	90	5.0	54	0	0	IgA, IgM	57	170	20

Ret: conteo de reticulocitos

B-nc: bilirrubina no conjugada

TPD: técnica de polibreno directa

Mp: técnica de microplacas

Las áreas sombreadas señalan los resultados positivos en el ELISA

Guía o instrucciones para el autor

1. Los artículos se remitirán al editor del boletín via email u correo normal. Deben venir escritos en computador en formato WORD .
2. El comité Editorial estudiará cada artículo y decidirá sobre la conveniencia de su publicación. En algunos casos podrá aceptarlo con algunas modificaciones o podrá sugerir la forma más adecuada para una nueva presentación
3. El nombre del autor, título profesional, país y posición actual se escribirán en la primera página junto al título del artículo que no debe ser mas de 5 páginas totales
4. El título debe ser corto, específico y claro y hace clara referencia al trabajo o hallazgos presentados
5. Cada artículo tendrá un resumen no mayor de 150 palabras que irá al comienzo del artículo
6. Todas las referencias se enumeran consecutivamente de acuerdo con el orden en el texto. Para las citas de revistas se incluirá en su orden apellido e iniciales del nombre del autor (es) máximo 6, título del artículo, nombre de la revista, año de publicación, volumen y numero de la primera y última página del trabajo consultado. p.e., Gómez I, Hernández M, Martínez C, Garcia M, Melchor A. Péptido quimérico para anticuerpos contra VHC. Biomédica 2001; 21:33-40
7. Los cuadros se numerarán consecutivamente, al igual que las figuras las que tendrán una numeración independiente de la de los cuadros. Cada cuadro o figura tiene una leyenda al pie que describa lo presentado. Los cuadros, figuras y fotografías deben ser originales del autor o deben tener permiso del editor correspondiente



GCIAMT

Grupo Cooperativo Iberoamericano de
Medicina Transfusional.