

## Desarrollo de la Inmunoematología en el Instituto de Hematología e Inmunología

### Development of the immunoematology in the Institute of Hematology and Immunology

DrC. Antonio A. Bencomo-Hernández, Dra. María E. Alfonso-Valdés, DrC. René A. Rivero-Jiménez, Dra. Leticia C. Sosa-González

Instituto de Hematología e Inmunología. Ciudad de La Habana, Cuba.

---

#### RESUMEN

El desarrollo de la Inmunoematología en el Instituto de Hematología e Inmunología en los últimos años se ha caracterizado por la introducción de los anticuerpos monoclonales hemoclasificadores y de nuevos ensayos para profundizar y optimizar el diagnóstico inmunoematológico, así como elevar el nivel científico de profesionales y técnicos vinculados con la especialidad. Los resultados más relevantes se obtuvieron en la generación de anticuerpos monoclonales y en el estudio de los auto y aloanticuerpos eritrocitarios y plaquetarios. Se ha destacado también la labor como Laboratorio de Referencia en Inmunoematología, así como los aportes a la docencia en medicina transfusional. Las proyecciones futuras de trabajo deberán estar encaminadas a la introducción de las técnicas moleculares en Inmunoematología y a profundizar en el estudio de los anticuerpos contra leucocitos y plaquetas.

**Palabras clave:** inmunoematología, grupos sanguíneos, medicina transfusional, anticuerpos monoclonales.

---

#### ABSTRACT

The development of the Immunoematology in the Institute of Hematology and Immunology in past years has been characterized by the introduction of hemoclassifying monoclonal antibodies and of new trials to deepen and to optimize

the immunohematologic diagnosis, as well as to raise the scientific level of the professionals and technicians linked to specialty. The more relevant results were achieved in monoclonal antibodies generation and in the study of the erythrocyte and platelet alloantibodies and autoantibodies. The work as Immunohematology Reference Laboratory has been emphasized as well as the contributions to transfusion medicine teaching. The future work projections must be directed to introduction of molecular techniques in Immunology and to deepen in the study of antibodies to leukocytes and platelets.

**Key words:** Immunohematology, blood groups, transfusion medicine, monoclonal antibodies.

---

El desarrollo de la Inmunohematología en el Instituto de Hematología e Inmunología (IHI) comenzó desde los inicios de la creación del centro a finales de los años 60. Los avances más notables en los primeros 30 años fueron publicados anteriormente en ocasión de celebrarse dicho aniversario, donde también se identificaban las líneas futuras de trabajo.<sup>1</sup> Dentro de estas, se sugería la introducción de los anticuerpos monoclonales para el diagnóstico y los ensayos inmunoenzimáticos cuantitativos, entre otros. En este trabajo se muestran los resultados alcanzados en los diferentes aspectos desarrollados en los últimos años.

## **GENERACIÓN Y FORMULACIÓN DE ANTICUERPOS MONOCLONALES Y HEMOCLASIFICADORES**

Los esfuerzos emprendidos en esta tarea se concretaron con la obtención del primer anticuerpo monoclonal murino anti-A obtenido en Cuba (clon IHI-15), útil como reactivo hemoclasificador por las características de reconocer los subgrupos A<sub>1</sub> y A<sub>2</sub>, así como variantes débiles como el A<sub>3</sub> y el A<sub>x</sub>.<sup>2</sup> Los anticuerpos de este clon poseen características singulares, con un patrón de reactividad inmunohistoquímica restringida al aparato de Golgi de células endoteliales y no reconocen a los oligosacáridos sintéticos A-tri y A-tetra-I, pero mostraron una reacción bien definida con la estructura H tipo 3 y con los glicolípidos eritrocitarios.<sup>3</sup> A partir de estos resultados se formuló un reactivo hemoclasificador anti-A monoclonal con los criterios de calidad recomendados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en cuanto a potencia, intensidad y avidéz, y en colaboración con el Centro de Inmunología Molecular, se escaló la producción y se evaluó en ensayo de terreno hasta determinar la estabilidad en anaquel del producto terminado.<sup>4-7</sup> Por sus resultados, esta investigación recibió el Premio Anual de la Salud del Ministerio de Salud Pública en el año 2000 y el Premio Anual de la Academia de Ciencias de Cuba en el año 2003. El estudio de reactivos para la hemoclasificación del grupo sanguíneo ABO se completó con los anticuerpos monoclonales anti-B generados en el Laboratorio de Antígenos Sintéticos de la Universidad de La Habana,<sup>8</sup> que fueron evaluados con iguales criterios a partir de una colaboración entre ambas instituciones.<sup>9</sup>

## ESTUDIOS DE GRUPOS SANGUÍNEOS E IDENTIFICACIÓN DE ERITROCITARIOS

El estudio de las variantes de los grupos sanguíneos ABO en la población cubana fue de los primeros realizados en este período, investigación que fue necesaria para apoyar la caracterización de los anticuerpos monoclonales hemoclasificadores y para la creación de bancos de células fenotipadas para el control externo de la calidad de estas producciones. Los resultados más relevantes indicaron que los subgrupos  $A_2$ ,  $A_{int}$  y  $A_2B$  son más frecuentes en los descendientes de africanos,<sup>10</sup> con una alta incidencia del fenotipo  $A_2B$  con deficiencia de H, que no reacciona con el reactivo anti- $A_1$  ni con la lectina anti-H de *Ulex europeus*.<sup>11</sup> La identificación de estos fenotipos es necesaria para la selección correcta de eritrocitos testigos en la evaluación de los reactivos anti-A. En este estudio, se identificó por vez primera la variante  $A_{el}$  en la población de donantes de sangre cubanos.<sup>10</sup>

La frecuencia de los fenotipos del sistema Rh también fue objeto de estudio; los resultados no difieren de los obtenidos en otras poblaciones con mezcla racial, pero confirmaron que en la nuestra, los fenotipos Rh CcDee y CcDEe predominaron en los individuos blancos y el fenotipo ccDee en negros, lo que predispone a estos últimos a la aloinmunización por transfusión para los antígenos Rh C y E.<sup>12</sup> Por otra parte, la expresión débil del antígeno D ó D débil (anteriormente  $D^u$ ), con el uso de anticuerpos anti-D policlonales, se identificó más frecuentemente entre los negros (12,5 %) y mestizos (6,1 %) que en los blancos (1,3 %). Sin embargo, con el empleo de los reactivos anti-D monoclonales, todos los D débiles identificados entre los blancos fueron clasificados como RhD positivos, y la frecuencia de D débil en los mestizos se reduce al 0,05 %, y en los negros, al 0,06 %. Se investigaron también los fenotipos D parciales y se encontró una frecuencia general en los donantes de sangre del 0,094 %. La categoría  $D^{VI}$  se demostró únicamente en los blancos y la categoría  $D^{Va}$  predominó entre los negros. En ninguno de los casos se detectaron anticuerpos anti-D séricos (resultados no publicados).

No obstante los resultados de la caracterización de los D parciales en los donantes de sangre, el hallazgo posterior de un paciente con anemia drepanocítica RhD positivo de la categoría  $D^{IVa}$  con anticuerpos anti-D, confirmó la presencia de otros D parciales no identificados. En este caso, el estudio de los eritrocitos con anticuerpos monoclonales anti-D reveló la ausencia de epítopes específicos que caracterizan a esta categoría, que fue confirmada por técnicas moleculares en el estudio de los exones del gen RhD.<sup>13</sup>

Aunque se habían realizado estudios previos de aloinmunización eritrocitaria en los pacientes con drepanocitosis, se comunicaron los resultados obtenidos en un total de 259 casos en relación con el protocolo pretransfusional establecido en cada ocasión. La investigación demostró que del 30 % de aloinmunización, se logró la disminución de la frecuencia de aloinmunización al 8,2 % en los adultos y al 4 % en los niños con la transfusión de eritrocitos fenotipados para los antígenos Rh (CcEe) y K en dependencia del fenotipo del paciente. El abandono de esta práctica en los años 90 debido a la pérdida de los mercados para la adquisición de los reactivos, elevó la frecuencia de aloinmunización al 23 % en los pacientes adultos y al 10 % en los niños. Los aloanticuerpos más frecuentemente identificados fueron anti-E, anti-C y anti-K; en el 64 % de los pacientes se detectaron anticuerpos contra un solo antígeno y en el 36 % se identificaron anticuerpos contra 2 o más antígenos de grupos sanguíneos.<sup>13</sup> Estos datos demuestran las ventajas de la transfusión de eritrocitos fenotipados para los antígenos Rh y K en este grupo de pacientes. Por otra parte, no se consideró necesario el fenotipaje preventivo de los antígenos de los sistemas *Duffy* y *Kidd*, ya que la aloinmunización contra los antígenos de estos sistemas fue menos frecuente.

Estos resultados fueron confirmados en el análisis de la terapia transfusional en pacientes pediátricos con drepanocitosis, donde se demostró una frecuencia de aloinmunización del 10,8 %.<sup>14</sup>

## **ALOINMUNIZACIÓN FETOMATERNA, TROMBOCITOPENIA NEONATAL ALOINMUNE Y ENFERMEDAD HEMOLÍTICA PERINATAL**

Los estudios realizados para caracterizar la aloinmunización contra células sanguíneas en mujeres nulíparas en el primer trimestre del embarazo, encontraron una alta frecuencia de aloinmunización contra leucocitos, principalmente anticuerpos anti-HLA, y una tendencia a la aparición de anticuerpos específicos contra leucocitos y plaquetas secundarios al aborto, sin la presencia de anticuerpos eritrocitarios.<sup>15,16</sup> Estos resultados alertan sobre la necesidad de profundizar en los estudios sobre el significado clínico de estos anticuerpos en el embarazo, especialmente aquellos relacionados con las enfermedades aloinmunes perinatales. Al respecto, se realizó el primer estudio en el país sobre la incidencia de la trombocitopenia neonatal aloinmune. La investigación abarcó todos los hospitales maternos de la provincia Ciudad de La Habana en un periodo de 6 años y mostró una incidencia de 1 x cada 13 869 nacidos vivos, con una letalidad del 33,3 %, y una tasa de mortalidad proporcional de 5,95 x 1 000 nacidos vivos.<sup>17</sup> El estudio demuestra la necesidad de proyectar investigaciones que evalúen el beneficio de la introducción del escrutinio de anticuerpos anti-plaquetarios durante el embarazo para evitar la letalidad perinatal por esta enfermedad.

En colaboración con el Servicio de Neonatología del Hospital General Docente "Enrique Cabrera" se han realizado varias investigaciones sobre la enfermedad hemolítica perinatal (EHPN). Los resultados más relevantes se obtuvieron en el estudio de la EHPN por incompatibilidad ABO, donde se determinó como criterio inmunohematológico asociado con el diagnóstico clínico, un título de IgG anti-A y anti-B materno igual o superior a 64. Por otra parte, el tratamiento con gammaglobulina endovenosa en los neonatos afectados logró la disminución de la exanguinotransfusión únicamente al 8 % de estos casos.<sup>18</sup> Otros resultados incluyen el diagnóstico y el tratamiento de un paciente en quien se asocia la EHPN por ABO con hemólisis mediada por anticuerpos del sistema de grupos sanguíneos *Kidd*.<sup>19</sup>

Para el estudio de la predicción prenatal de la EHPN por RhD se introdujo un método inmunoenzimático para determinar la concentración sérica de IgG anti-D en embarazadas RhD negativas aloinmunizadas. La concentración de IgG anti D fue mayor que 4 UI/mL, en todos los casos con afección clínica y aumentó de acuerdo con la severidad de la enfermedad, por lo que se recomendó la introducción de este método en el seguimiento de la embarazadas RhD negativas aloinmunizadas.<sup>20</sup>

## **CARACTERIZACIÓN DE ANTICUERPOS ERITROCITARIOS Y PLAQUETARIOS**

Las detección de autoanticuerpos eritrocitarios es una de las pruebas inmunohematológicas más indicadas en los pacientes hematológicos. Las investigaciones en este campo se centraron en introducir ensayos más sensibles para la caracterización de los autoanticuerpos. De esta forma, se estableció un

micrométodo para la detección de clases y subclases de los autoanticuerpos eritrocitarios y un ensayo inmunoenzimático para la cuantificación de autoanticuerpos de los isotipos IgG, IgA e IgM en los hematíes de los pacientes con anemia hemolítica autoinmune (AHAI).<sup>21,22</sup>

Entre los resultados de su aplicación se destaca la introducción de la cuantificación de autoanticuerpos asociada con los hematíes, para el diagnóstico de la AHAI con prueba de Coombs negativa,<sup>23</sup> y se demostró que la severidad de la hemólisis en los pacientes con AHAI está en relación con la coexistencia de múltiples inmunoglobulinas en los hematíes y en especial de la IgM.<sup>24, 25</sup> En los casos de AHAI inducida por el tratamiento con interferón alfa, se encontró una relación cuantitativa entre el número de moléculas de IgG por hematíe y la severidad de la hemólisis, que permiten recomendar este método como una herramienta para la evaluación de la hemólisis inmune inducida por este fármaco y para la decisión de la conducta terapéutica (resultados no publicados). Se caracterizaron también los pacientes con AHAI atendidos en nuestra institución y se evaluó la respuesta al tratamiento.<sup>26</sup>

Para el estudio de los autoanticuerpos anti-plaquetarios se desarrolló un ensayo inmunoenzimático para la detección de anticuerpos de los isotipos IgG, IgA e IgM, que dentro de otras bondades, permitió realizar la determinación en pacientes con trombocitopenia severa. El método mostró una sensibilidad del 83,3 % para la detección de autoanticuerpos en pacientes con púrpura trombocitopénica autoinmune (PTA) aguda, y del 71,4 % en los casos con PTA crónica.<sup>27</sup> En una caracterización posterior de los casos con PTA aguda se encontró que la presencia de autoanticuerpos IgA se relacionó con una evolución desfavorable de la enfermedad (resultados no publicados).

## ESTUDIOS DE REFERENCIA

En 1997, el Departamento de Inmunohematología fue designado por el Centro para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos (CECMED) como laboratorio evaluador para el control externo de la calidad de los reactivos para uso en inmunohematología. En un inicio, y junto con los especialistas del CECMED, se elaboraron las recomendaciones para la evaluación de los diagnosticadores para uso en inmunohematología. Esta regulación establece los requisitos de calidad que deben de cumplir los sueros hemoclasificadores, el reactivo antiglobulínico (Coombs), la albumina bovina, así como los ensayos de terreno que deben realizarse a estos diagnosticadores para su registro y uso en el país.<sup>28</sup> A partir de ese año se analizaron las producciones de todos los reactivos mencionados con liberación de lote por el CECMED, de acuerdo con el certificado de evaluación emitido por el Laboratorio de Inmunohematología del IHI. Este laboratorio, junto con el CECMED, participó también en un estudio multicéntrico para la validación del estándar internacional del suero hemoclasificador anti-D.<sup>29</sup>

La experiencia en estudios de referencia obtenida en la evaluación de anticuerpos monoclonales anti-D,<sup>30</sup> mediante la participación en el III Taller Internacional de Anticuerpos Monoclonales contra Antígenos Eritrocitarios y Relacionados, celebrado en Nantes, Francia, en 1996, fue ampliada con la participación en el IV Taller en París, en el 2001. Para este último, se estudiaron en nuestro laboratorio 61 anticuerpos monoclonales anti-D con la finalidad de definir su especificidad epitópica D;<sup>31</sup> y 64 anticuerpos monoclonales que reconocían a los antígenos A, B, AB, A<sub>1</sub>, H, Lewis y P<sub>1</sub>, para evaluar su factibilidad como reactivo hemoclasificador.<sup>32</sup> La participación en estos talleres permitió contar con reactivos monoclonales anti-D

de referencia para caracterizar los epítopes del antígeno en las variantes RhD parciales, así como la comparación de nuestros resultados con los obtenidos por otros laboratorios en la evaluación de anticuerpos monoclonales hemoclasificadores.

## **DOCENCIA**

La docencia en Inmunoematología ha estado siempre presente en la formación posgraduada de la residencia en las especialidades médicas de Hematología e Inmunología. Sin embargo, con la creación de la Licenciatura en Tecnología de la Salud en el perfil de Medicina Transfusional, se han adquirido nuevas responsabilidades. Con la colaboración de especialistas del IHI se realizó el diseño de la carrera y los programas de las asignaturas de Hematología, Inmunología Básica, Biología Molecular, Genética, Inmunoematología y Transfusiología. El IHI jerarquiza también la preparación práctica y las evaluaciones de los alumnos en la docencia de Inmunoematología. En este período, especialistas de nuestra institución han dirigido varios trabajos de tesis para la obtención de grado en este perfil y han publicado una serie de artículos<sup>33-35</sup> como apoyo bibliográfico para la preparación en esta disciplina, así como varios capítulos para el libro de texto sobre Laboratorio Clínico.<sup>36-40</sup>

Con la colaboración de la Organización Panamericana de la Salud (OPS), el IHI editó los Procederes para Bancos de Sangre y Servicios de Transfusión<sup>41</sup> y las Guías Clínicas de la Medicina Transfusional.<sup>42</sup> Estos textos ofrecen la información necesaria para la normalización de los procesos en general para la captación del donante de sangre hasta la transfusión al receptor, y la actualización de conocimientos científicos en Medicina Transfusional que coadyuven al uso más racional de la transfusión de sangre y componentes sanguíneos, donde tiene un peso importante la Inmunoematología.

## **CONSIDERACIONES FINALES**

Las investigaciones realizadas en los últimos años se centraron fundamentalmente en la introducción de los anticuerpos monoclonales hemoclasificadores y en la realización de nuevos ensayos para profundizar y optimizar el diagnóstico inmunoematológico, así como elevar el nivel científico de profesionales y técnicos vinculados con la especialidad. La Inmunoematología se ha desarrollado vertiginosamente en la última década a nivel internacional, con el desarrollo de las técnicas moleculares para el estudio de los grupos sanguíneos eritrocitarios, plaquetarios y leucocitarios y con el empleo de técnicas que permiten una mejor caracterización de los anticuerpos contra células sanguíneas. De esta forma, las proyecciones futuras deberán estar encaminadas a la introducción de las técnicas moleculares en Inmunoematología y a profundizar en el estudio de los anticuerpos contra leucocitos y plaquetas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alfonso ME, Bencomo AA, Alfonso Y, Ballester JM. Desarrollo de la hemoterapia y la inmunohematología en los 30 años del Instituto de Hematología e inmunología. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter.* 1996;12:154-60.
2. Rivero RA, Suárez L, Bencomo AA, González R, González J, Palma L, et al. Generation of murine monoclonal antibodies against the A blood group antigen by immunization with Aint variant rbc. *Transfus Clin Biol.* 1996;3:42.
3. Rivero RA, Suárez L, Bencomo AA. Características serológicas y análisis inmunohistológico del anticuerpos monoclonal IHI-15 anti-A: Resultados de su evaluación en Nantes. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter.* 1998;14:158-66.
4. Suárez L, Rivero RA, Bencomo AA, Díaz T, González J, Rodríguez T, et al. Ensayo de terreno de anticuerpos monoclonales hemoclasificadores obtenidos en Cuba. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter.* 1997;13:63-9.
5. Suárez L, Rivero RA, Pérez R, Bencomo AA, Torres F, Martínez M, et al. Reactivo hemoclasificador monoclonal cubano Hemo-CIM anti-A: Estudio de estabilidad. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter.* 1999;15 :137-43.
6. Suárez L, Hernández A, Rivero RA, Bencomo AA, Rodríguez T. Creación de un sistema analítico de evaluación de la actividad biológica y una base documental que garantice la producción y calidad del reactivo hemoclasificador Hemo-CIM anti-A. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter.* 2000;16:132-7.
7. Rivero RA, Suárez LE, Bencomo AA, González RA, González JM, Ballester JM, et al. Obtención de un reactivo monoclonal hemoclasificador Anti-A para el sistema de grupos sanguíneos ABO. *Biotecnol Apl.* 2004;21:167-9.
8. Campos M, Alaez C, Sarracent P, Rodríguez J, Herrera M, Bencomo AA, et al. Human blood group trisaccharide, synthesis, characterization and use for generation and selection of monoclonal antibodies with a know specificity. *Biotecnol Apl.* 1995;12:36-4.
9. Rivero RA, Suárez L, Bencomo AA, González R, Martínez M, Tormo B, et al. Ensayo de terreno de reactivos hemoclasificadores monoclonales Hemo-CIM anti-A y Hemo-CIM anti-B como productos terminados. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter.* 1998;14:167-75.
10. Bencomo AA, Alfonso Y, Alfonso ME, Fernández J, Ballester A. Frecuencia de los grupos sanguíneos A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, A<sub>int</sub>, A<sub>el</sub>, B y O en donantes de sangre. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter.* 1997;13:124-31.
11. Alfonso Y, Bencomo AA, Alfonso ME, González R, Martínez M. Incidencia de la deficiencia de sustancia H en los eritrocitos de los grupos A y AB. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter.* 1997;13:132-40.
12. Bencomo AA, Alfonso Y, Alfonso ME, González R, Martínez M. Frecuencia de los grupos sanguíneos ABO y Rh en donantes de sangre cubanos. *Rev Argent Transfus.* 1997;23:20-1.
13. Bencomo AA, Alfonso ME. Aspectos prácticos de la transfusión en pacientes con drepanocitosis. *SETS* 2003;49:9-11.

14. Cortina L, García T, Bencomo AA, López de Roux MR, Vilarrubia OL, Svarch E. Terapia transfusional en pacientes pediátricos con drepanocitosis. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [serie en internet]. 2003 Dic [citado 20 mayo 2010]; 19(2-3). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892003000200012&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892003000200012&lng=es)
15. Alfonso ME, Muñiz E, Bencomo AA, López de Roux MR, Cruz F, Morera LM, et al. Aloanticuerpos contra células sanguíneas en embarazadas nulíparas antes y después de abortos provocados. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [serie en internet]. 2008 Ago [citado 20 mayo 2010]; 24(2). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892008000200007&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892008000200007&lng=es)
16. Alfonso ME, Muñiz E, Bencomo AA, López de Roux MR, Cruz F, Lam RM, et al. Aloinmunización contra células sanguíneas en el primer trimestre del embarazo. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [serie en internet]. 2006 Ago [citado 20 mayo 2010]; 22(2). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892006000200006&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892006000200006&lng=es)
17. Sosa L, Soler G, Bencomo AA, Rodríguez T, Rodríguez M. Trombocitopenias neonatales en Ciudad de La Habana. Incidencia y características de la enfermedad. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [serie en internet]. 2009;25(4). Disponible en: [http://bvs.sld.cu/revistas/hih/vol25\\_04\\_09/hih03409.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/hih/vol25_04_09/hih03409.htm)
18. Villegas D, Durán R, Alfonso A, López de Roux MR, Cortina L, Vilar M, et al. Enfermedad hemolítica del recién nacido por incompatibilidad ABO. Rev Cubana Pediatr [serie en internet]. 2007 Dic [citado 20 mayo 2010]; 79(4). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75312007000400002&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75312007000400002&lng=es)
19. López de Roux MR, Alfonso A, Villegas D, Durán R, Bencomo AA, Cortina L. Enfermedad hemolítica perinatal por dos aloanticuerpos: presentación de un caso. Rev Argent Transfus. 2008; 34:87-90.
20. Alfonso ME, Cortés V, Hernández P, Bencomo AA. Título y concentración de IgG anti-D en la enfermedad hemolítica del feto y el recién nacido. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter. 2000; 16:105-14.
21. 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 anemia hemolítica autoinmune. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter. 2002; 18: 20-6.
22. 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. Immunoematology 2003; 19: 47-53.
23. Bencomo AA, Alfonso M E, Ávila O M, Jaime JC, Hernández P. Detección y cuantificación de autoanticuerpos en los hematíes de pacientes con anemia hemolítica autoinmune con prueba de Coombs negativa. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [serie en internet]. 2005 Dic [citado 20 mayo 2010]; 21(3). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892005000300006&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892005000300006&lng=es)

24. Bencomo AA, Jaime JC, Alfonso Y, Díaz M, Alfonso ME. Anemia hemolítica autoinmune. Estudio de 183 pacientes. Rev Argent Transfus. 2003;24:41-9.
25. Bencomo AA, Alfonso ME, Ávila OM, Espinosa E, Jaime JC, Hernández P. Relación entre hemólisis con la presencia y cuantificación de inmunoglobulinas en hematíes, en la anemia hemolítica autoinmune. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [serie en internet]. 2010;26 (4). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892010000400007&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892010000400007&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
26. Alfonso ME, Bencomo AA, Espinosa E, Guerrero R, Guerra E, Guerrero AI. Caracterización de pacientes adultos con anemia hemolítica autoinmune atendidos en el Instituto de Hematología e Inmunología. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [serie en internet]. 2009 Dic [citado 20 mayo 2010]; 25(3). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892009000300005&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892009000300005&lng=es)
27. Díaz M, Bencomo AA, Castillo C, Levón R, Alfonso Y. Desarrollo de un ensayo inmunoenzimático para la detección de anticuerpos antiplaquetarios de los isotipos IgG, IgA e IgM. Rev Argent Transfus. 2002;28:49-58.
28. Centro para el Control de la Calidad de los Medicamentos. Resolución 5: Recomendaciones para la evaluación de los diagnosticadores para uso en Inmunoematología. La Habana; 1997.
29. Thorpe SJ, Fox B, Heath AB, Scott M, de Haas M, Kochman S, Padilla A. An international standard for specifying the minimum potency of anti-D blood-grouping reagents: Evaluation of a candidate preparation in an international collaborative study. Vox Sang. 2006;90:131\_9.
30. Hernández-Díaz P, Bencomo AA, Rivero R. Evaluación de anticuerpos monoclonales anti-D para el tipaje RhD. Rev Argent Transfus. 2000;26:143-54.
31. Bencomo AA, Alfonso Y, Díaz M, Rivero R. Reactivity of anti-D monoclonal antibodies with D variants red blood cells from black cuban persons. Transfus Clin Biol. 2001;8:246s.
32. Alfonso Y, Bencomo AA, Díaz M, Rivero R. Report on section 2: Serology of antibodies to ABO and other carbohydrate antigens. Transfus Clin Biol. 2001;8:251s.
33. Alfonso Y, Bencomo AA. Procedimientos para la detección e identificación de anticuerpos eritrocitarios. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter. 2001;17:98-107.
34. Díaz M, Bencomo A. Anticuerpos antiplaquetarios: dianas, métodos de detección y significación clínica. Rev Argent Transfus. 2001;27:33-42.
35. López de Roux MR, Cortina L, Muñiz E, Bencomo AA. Aloantígenos de granulocitos: importancia clínica. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [serie en internet]. 2003 Dic [citado 20 mayo 2010]; 19(2-3). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892003000200001&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892003000200001&lng=es)

36. Bencomo AA, Alfonso ME, Alfonso Y, Díaz M. Grupos sanguíneos eritrocitarios. En: Suardíaz J, Cruz C, Colina A. Laboratorio Clínico. La Habana: Editorial de Ciencias Médicas; 2004. p. 553-74.
37. \_\_\_\_\_. Procedimientos para la detección e identificación de anticuerpos eritrocitarios. Prueba de compatibilidad pretransfusional. En: Suardíaz J, Cruz C, Colina A. Laboratorio Clínico. La Habana: Editorial de Ciencias Médicas; 2004. p.575-92.
38. \_\_\_\_\_. Inmunología de las plaquetas y los leucocitos. En: Suardíaz J, Cruz C, Colina A. Laboratorio Clínico. La Habana: Editorial de Ciencias Médicas; 2004. p. 593-610.
39. Alfonso ME, Bencomo AA, Cortina L, Díaz P, López de Roux R. Medicina Transfusional. En: Suardíaz J, Cruz C, Colina A. Laboratorio Clínico. La Habana: Editorial de Ciencias Médicas; 2004. p. 611-46.
40. \_\_\_\_\_. Reacción transfusional. En: Suardíaz J, Cruz C, Colina A. Laboratorio Clínico. La Habana: Editorial de Ciencias Médicas; 2004. p. 647-59.
41. Ballester JM, Alfonso ME, Ballester L, Bencomo AA, Cortina L, Macías C, et al. Procederes de bancos de sangre y servicios de transfusiones. La Habana: Instituto de Hematología e Inmunología, Organización Panamericana de la Salud; 2004.
42. Ballester JM, Alfonso ME, Bencomo AA, Castillo D, Cortina L, López de Roux MR, et al. ABC de la medicina transfusional: guías clínicas. Instituto de Hematología e Inmunología, Comisión Nacional de Sangre, Organización Panamericana de la Salud; 2006.

Recibido: 13 de agosto del 2010.

Aprobado: 30 de agosto del 2010.

DrC. *Antonio A. Bencomo-Hernández*. Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado 8070, CP 10800. Ciudad de La Habana, Cuba. Tel (537) 643 8695, 8268, Fax (537) 644 2334. Correo electrónico: [ihidir@hemato.sld.cu](mailto:ihidir@hemato.sld.cu); [ihi@infomed.sld.cu](mailto:ihi@infomed.sld.cu)  
Website: <http://www.sld.cu/sitios/ih/index.php>