



UTMACH

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA
SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

RECOMENDAR PRUEBAS CLÍNICAS ADICIONALES PARA EL
DIAGNÓSTICO DE ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOINMUNE

GARCIA RAMON ANGEL FABIAN
BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

MACHALA
2017



UTMACH

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA
SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

RECOMENDAR PRUEBAS CLÍNICAS ADICIONALES PARA EL
DIAGNÓSTICO DE ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOINMUNE

GARCIA RAMON ANGEL FABIAN
BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

MACHALA
2017



UTMACH

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA
SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

EXAMEN COMPLEXIVO

RECOMENDAR PRUEBAS CLÍNICAS ADICIONALES PARA EL DIAGNÓSTICO DE
ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOINMUNE

GARCIA RAMON ANGEL FABIAN
BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

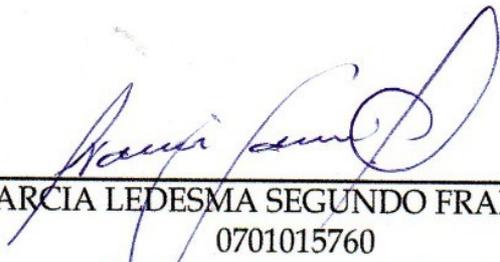
GARCIA LEDESMA SEGUNDO FRANCISCO

MACHALA, 23 DE AGOSTO DE 2017

MACHALA
23 de agosto de 2017

Nota de aceptación:

Quienes suscriben, en nuestra condición de evaluadores del trabajo de titulación denominado Recomendar pruebas clínicas adicionales para el diagnóstico de Anemia Hemolítica Autoinmune, hacemos constar que luego de haber revisado el manuscrito del precitado trabajo, consideramos que reúne las condiciones académicas para continuar con la fase de evaluación correspondiente.



GARCIA LEDESMA SEGUNDO FRANCISCO
0701015760
TUTOR - ESPECIALISTA 1



MACKLIFF JARAMILLO CAROLINA GRACE
0701549719
ESPECIALISTA 2



DAVILA DAVILA KERLY ELIZABETH
0704186790
ESPECIALISTA 3

Fecha de impresión: lunes 14 de agosto de 2017 - 08:26

Urkund Analysis Result

Analysed Document: GARCIA RAMON ANGEL FABIAN_PT-010517.pdf (D29706505)
Submitted: 2017-07-20 17:23:00
Submitted By: titulacion_sv1@utmachala.edu.ec
Significance: 1 %

Sources included in the report:

<http://documents.tips/documents/anemia-hemolitica-1pptx.html>

Instances where selected sources appear:

1

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

El que suscribe, GARCIA RAMON ANGEL FABIAN, en calidad de autor del siguiente trabajo escrito titulado Recomendar pruebas clínicas adicionales para el diagnóstico de Anemia Hemolítica Autoinmune, otorga a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tiene potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

El autor declara que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

El autor como garante de la autoría de la obra y en relación a la misma, declara que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asume la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 23 de agosto de 2017



GARCIA RAMON ANGEL FABIAN
0705386027

1.- TÍTULO

Recomendar pruebas clínicas adicionales para el diagnóstico de Anemia Hemolítica Autoinmune

2.- RESUMEN

Se describe el caso de un/una adolescente de 16 años que habita en una zona rural con frío y acude a un centro hospitalario con síntomas de fiebre aparentemente sin muchas complicaciones, pero al administrar por varios días medicamentos como penicilina y cefalosporina respectivamente, se diagnostica una posible neumonía bacteriana, pero reaparecen los síntomas y aumentan otros por lo que se plantea una anemia hemolítica autoinmune secundaria, para demostrarlo se aplica Biometría Hemática, Prueba de Coombs y la determinación y cuantificación de IgM por el método de Microplacas y de Elisa respectivamente.

Palabras Claves: anemia hemolítica autoinmune, prueba de coombs, biometría hemática, centro hospitalario, elisa, microplacas.

ABSTRACT

The case of a 16-year-old teenager who lives in a cold rural area and goes to a hospital with symptoms of fever apparently without many complications is described, but when administered for several days medications such as penicillin and cephalosporin respectively, it is diagnosed A possible bacterial pneumonia, but the symptoms reappear and others increase so that a secondary autoimmune hemolytic anemia occurs. To demonstrate this, Hematologic Biometry, Coombs Test and the determination and quantification of IgM by the Microplate and Elisa method respectively.

Key words: Autoimmune hemolytic anemia, coombs test, hematic biometrics, hospital center, elisa, microplates.

LISTA DE ABREVIATURAS

PAD: Prueba de antiglobulina directa

AHAI: Anemia Hemolítica Autoinmune

IgG: Inmunoglobulina G

IgA: Inmunoglobulina A

IgM: Inmunoglobulina M

C3: Complemento 3

HbS: Hemoglobina S

SAF: síndrome de aglutininas frías

HPF: Hemoglobinuria paroxística a frigore

Hb: Hemoglobina

Hto: Hematocrito

Mp: Microplacas

gr/L: gramos sobre litro

gr/dL: gramos sobre decilitro

%: porcentaje

3.- ESQUEMA

	Pg.
Ø 3.1 Introducción	4
Ø 3.2 Exploración Física	5
Ø 3.3 Métodos de Identificación	6
3.3.1 Biometría Hemática	6-7
3.3.2 Prueba de Coombs	8
o 3.3.2.1 La prueba de antiglobulina directa	8
o 3.3.2.2 La técnica de antiglobulina indirecta	8
3.3.3.- Prueba de falciformidad	9-10
3.3.4.- Determinación y cuantificación de IgM	10
o 3.3.4.1 Técnica de microplacas (Mp) para la detección de autoanticuerpos eritrocitarios en el eluato de los hematíes	10
o 3.3.4.2 Ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la cuantificación de IgG, IgA e IgM asociadas con los hematíes	11
Ø 3.4 Resultados	12
Ø 3.5 Discusión	12
Ø 3.6 Conclusión	13
Ø 3.7 Bibliografía	14

3.1.- INTRODUCCIÓN

Al momento de llegar un paciente con un cuadro de anemia, se le comienza a realizar estudios con orden, priorizando con el interrogatorio, exámenes físicos y de carácter básico de laboratorio como: un completo hemograma, recuento de plaquetas y reticulocitos, además de un exhaustivo perfil de hierro (transferrinemia, hierro en sangre, saturación de transferrina y ferritina en suero), hepatograma, eritrosedimentación, análisis de la función renal, análisis tiroideo, lactato deshidrogenasa y haptoglobina en suero¹.

La hemólisis es la eliminación (prematura) de los glóbulos rojos o hematíes con un acompañamiento de liberación de hemoglobina². Esto se presenta cuando la capacidad de la médula ósea en la producción de glóbulos rojos (hematíes) es sobresalida en comparación por la destrucción de los mismos, originando lo que comúnmente se conoce como anemia hemolítica². En ciertos casos al existir una estimulación elevada, la médula ósea desarrolla una hiperplasia elevando la producción de glóbulos rojos entre seis a ocho veces².

La hemólisis no es otra cosa que la destrucción de los glóbulos rojos por muchas causas, pero para el presente caso que estoy tratando se debe a un mecanismo inmunológico, y esta anomalía es denominada como patología autoinmune.

La anemia falciforme o drepanocítica por lo general se presenta en niños de raza negra en África y nuestro medio podemos citar la provincia de Esmeraldas, este tipo de anemia es de característica hereditaria, el grado de falciformidad y el de alteraciones morfológicas reflejan la proporción de HbS y que otras hemoglobinas están presentes en el eritrocito⁴.

La anemia falciforme es reconocible en laboratorio cuando se realiza un frotis en extendido, donde en el microscopio se observan células deforme o falsa forma de ahí su nombre, o en forma de disco o de media luna esto es de acuerdo al grado de proporción de HbS y otras hemoglobinas presentes.

La AHAI pueden ser por anticuerpos calientes o por anticuerpos fríos, la primera se presenta por lo general en el adulto y predominan los anticuerpos de clase IgG y en menor grado IgM e IgA, desarrollables a una temperatura de 37°C y producen hemólisis extravascular, la segunda también conocida como síndrome de aglutininas frías se presentan con mayor frecuencia en adolescentes, raro en niños son de clase IgM, se activan a una temperatura de 4°C hasta 30°C y producen hemólisis intravascular⁵.

La biometría hemática, conocida también como citometría hemática, corresponde al examen del laboratorio de mayor utilización en cuanto a su frecuencia solicitada, debido a que en un solo análisis se reportan las tres líneas celulares comunes: Eritroides (glóbulos rojos), leucocitos (glóbulos blancos) y plaquetas, que constituyen un factor fundamental a la orientación del especialista en patologías a nivel hematológico o enfermedades en diferentes tejidos u órganos⁶.

La biometría hemática nos presentan índices como la hemoglobina y el hematocrito que en porcentajes disminuidos nos dan una prueba positiva para anemia, ya que en este caso clínico los valores de Hb=7g/L y Hto=0.29l/L, siendo los valores normales de Hb=12-14g/L y Hto=0.41l/L evidenciando la disminución mencionada.

Para la realización del examen de antiglobulina (prueba de Coombs) con la utilización del suero poliespecífico de antiglobulina humana, es el método más utilizado en inmuno-hematología, siendo los componentes fundamentales del reactivo antiglobulina: anticuerpos anti IgG y anti C3, la acción anti IgA y anti IgM no son necesarios pero anhelados⁷, debido a la presencia de estos anticuerpos permite detectar auto-anticuerpos IgM que no aglutinan, e IgA en el examen de antiglobulina directa, para evaluar la presencia de anemia hemolítica autoinmune (AHAI), que en ciertas ocasiones, por lo difícil que es su detección, están comprendidos en casos de AHAI (Coombs negativa)⁷.

3.2.- EXPLORACIÓN FÍSICA

Desde el punto de vista clínico, la AHAI por crioaglutininas se presenta de forma aguda en el curso del proceso infeccioso, con síntomas determinados tanto por la propia anemia como por la aglutinación de glóbulos rojos a bajas temperaturas, tales como disnea, palidez, ictericia, hepatoesplenomegalia y acrocianosis con la exposición al frío⁸.

También puede presentarse en adolescentes con anemia hemolítica autoinmune por anticuerpos fríos y degranocitemia de aparición tardía: Palidez cutáneo-mucosa, disnea, tiraje intercostal, murmullo vesicular disminuido hacia la base derecha con subcrepitantes, sibilantes bilaterales sin íctero ni visceromegalia³.

En la exploración física el médico se puede dar cuenta a simple vista de los síntomas externos que presenta el paciente, y en este caso clínico conociendo los antecedentes del adolescente como por ejemplo que residía en una zona con un ambiente de frío, además la presencia de fiebre son atenuantes para presumir una anemia.

El interrogatorio debe ser exhaustivo y dirigido fundamentalmente a los siguientes aspectos: etnia, historia familiar (anemia, ictericia, litiasis vesicular, esplenomegalia o esplenectomía), antecedentes personales (ictericia neonatal, ingesta de fármacos, abortos)¹. Más allá de solo observar al paciente es fundamental conocer su historial para poder tener una idea de un diagnóstico presuntivo, esto es el caso de que hay varias enfermedades de carácter hereditario u otras por el tipo étnico presentándose así las células falciformes.

3.3.- MÉTODOS DE IDENTIFICACIÓN

Las AHAI por anticuerpos fríos se clasifican en: síndrome de aglutininas frías (SAF) y la Hemoglobinuria paroxística a frigore (HPF)⁹.

El SAF es el tipo más común de anemia hemolítica asociada con anticuerpos fríos, puede ser aguda (secundaria a enfermedades linfoproliferativas o a la infección por *Mycoplasma pneumoniae*, o crónica (en pacientes de edad avanzada con manifestaciones de anemia ligera o moderada)⁹.

La HPF es poco frecuente, aparece comúnmente como un proceso agudo ocasional secundaria a infecciones virales, particularmente en niños y puede presentarse como una enfermedad crónica idiopática en personas de edad avanzada⁹.

Para los métodos de identificación del presente caso no solo vamos a tomar en cuenta los síntomas físicos, si no también pruebas clínicas como: biometría hemática, prueba de Coombs, la prueba de falciformidad, métodos más sensibles como: la determinación de inmunoglobulinas por microplacas y cuantificación de IgM por Elisa.

3.3.1.- Biometría hemática

Es de vital importancia que tomemos en cuenta que los parámetros de la biometría hemática, varían por factores como la altura al nivel del mar, el género y edad del paciente a tratarse⁶. Cabe indicar que el recuento eritrocitario, nos da un índice del contenido de hemoglobina

presente en los glóbulos rojos, además de su tamaño de cada uno de los mismos. Siendo este conjunto de datos una orientación hacia posibles anemias⁶.

El contenido fundamental que poseen los eritrocitos, es la hemoglobina, la cual posee la función de transportar de los pulmones el oxígeno/dióxido de carbono a los diferentes tejidos y viceversa (transporte)⁶. En la persona adulta sana presenta 4.6 a 5.2($\times 10^{12}$ /L) de glóbulos rojos, siendo el 45% del volumen sanguíneo que circula, y al centrifugar una muestra sanguínea; Siendo esta proporción que guardan con el plasma lo llamado hematocrito⁶.

Los índices hematológicos son los primeros pasos y fundamentales para la determinación de una anemia, en el presente caso será una de las pruebas a realizarse en el o la adolescente tomando en cuenta su edad ya que los parámetros de hemoglobina y hematocrito varían.

A continuación se enuncia los valores normales de los índices hematológicos que presenta el caso clínico de acuerdo a la edad de la paciente.

Índices hematológicos de acuerdo con la edad

Edad 12 a 18 años	Hemoglobina (Hb) (gr/dL)	Hematocrito (Hto) (%)
Hombre	13-14.5	43
Mujer	12-14	41

Fuente: López - Santiago N

Para convertir unidades de % (US) a unidades de fracción (SI) se multiplica por 0.01

Valores de Hb y Hto del paciente del caso a resolver

Edad 16 años	Hemoglobina (Hb) (gr/L)	Hematocrito (Hto) (l/L)
?	7	0.29

Fuente: Ángel García

3.3.2.- Prueba de Coombs

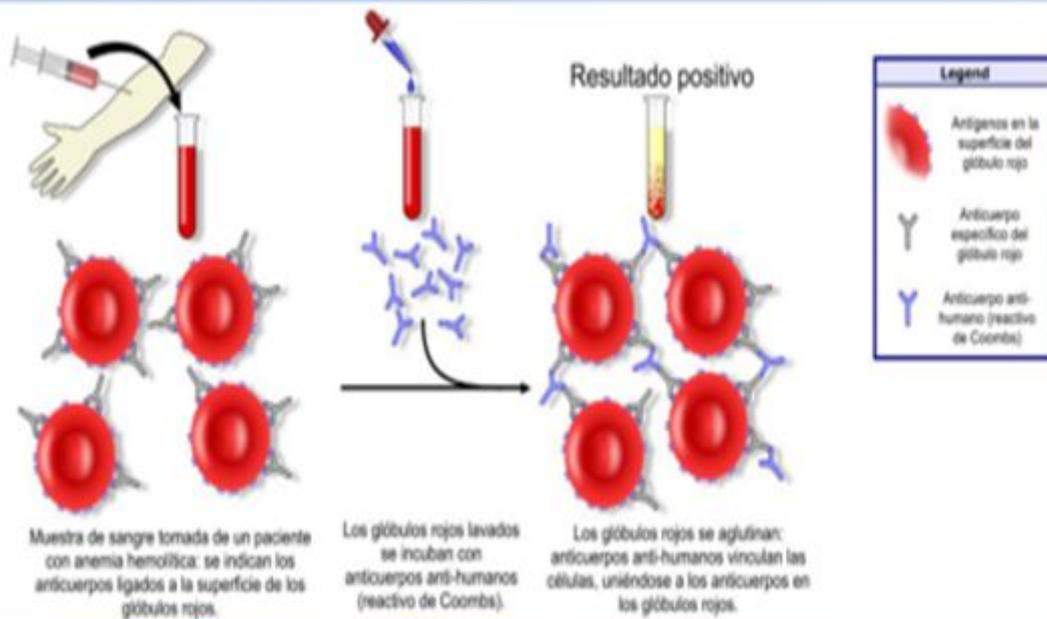
Al utilizar la técnica de Coombs, la cual permite detectar un mínimo de 200 y 500 inmunoglobulinas IgG por cada hematíe⁷. El límite para determinar la presencia de anticuerpos de los isotipos IgA e IgM aún no se ha logrado su determinación, debido a lo no existencia de consensos para la generalización de reactivos antiglobulínicos con estas especificaciones, por su poca utilización, o se inclina por emplear métodos más sensibles para la determinación inmunoglobulinas en los hematíes⁷.

La prueba de Coombs también conocida como la prueba de antiglobulinas que nos va a determinar la presencia de anticuerpos IgG, IgA e IgM, esta prueba se divide en prueba de Coombs directa y prueba de Coombs indirecta.

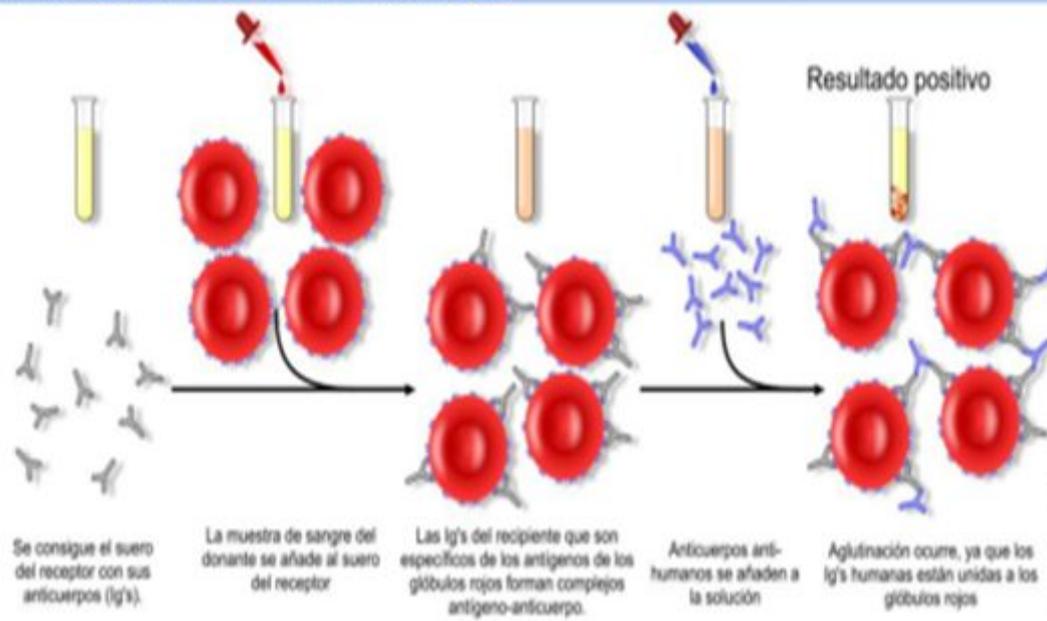
3.3.2.1.- La técnica de antiglobulina directa: Se utiliza para la determinación de inmunoglobulinas o fracciones del complemento recubriendo los eritrocitos¹⁰. Este análisis puede presentarse en distintas condiciones, siendo una de ellas la presencia de aloanticuerpos, resultado de reacciones hemolíticas tardías, enfermedades hemolíticas presentes en el recién nacido, o auto-anticuerpos de anemias autoinmunes hemolíticas. Estos aloanticuerpos se dirigen a la superficie de los eritrocitos en contra de los antígenos, además de anticuerpos que encaminan contra las drogas que se absorben en la membrana eritrocitaria, o por la activación del sistema de complemento en la superficie¹⁰.

3.3.2.2.- La prueba de antiglobulina indirecta: Mediante aplicación de esta técnica nos permite identificar anticuerpos (IgG), los mismos que no presentan la propiedad de aglutinar de una manera natural, requiriendo una fase de revelación para detectarlos¹⁰. Para ello se utiliza en el fenotipaje de los grupos sanguíneos, donde los antígenos presentan una densidad antigénica baja, además de la utilización del anticuerpo IgG. También se puede aplicar cuando buscamos anticuerpos IgG en el suero de algún paciente¹⁰.

Prueba de Coombs directa



Prueba de Coombs indirecta



Fuente: Jose Barreto Garcia

3.3.3.- Prueba de Falciformidad

Cuando se desoxigenan los hematíes que contiene por lo menos un 20% de HbS, adquiere forma de media luna, mientras que los hematíes que carecen de la HbS conservan la configuración normal⁴.

Se obtuvo mayor velocidad y seguridad con la clásica preparación de células falciformes de Daland y Castle⁴. La sangre que se ha de ensayar se mezcla con una solución de metabisulfito de sodio al 2% ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_2$) colocada bajo un cubreobjetos⁴. Se espere minutos hasta horas y se nota la falciformidad. Solo los hematíes que contienen menos del 40% de HbS (igual que en el rasgo de células falciformes) presentan falciformidad en forma relativamente lenta y adquieren una configuración en forma de hoja de acebo, los glóbulos que contienen 50% o más de HbS se vuelven falciformes con mayor rapidez, habitualmente en minutos y adquieren una forma filamentosa⁴.

3.3.4- Determinación y cuantificación de IgM

3.3.4.1 Técnica de microplacas (Mp) para la detección de autoanticuerpos eritrocitarios en el eluato de los hematíes¹¹:

Se sensibilizó una mezcla de hematíes de donantes de sangre de grupo O y de fenotipo Rh, R 1 R 1, R 2 R 2 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 10 mL de la mezcla de hematíes de donantes y 100 mL de los eluatos, los que se incubaron a 37°C durante 1 hora¹¹. Posteriormente, los hematíes se lavaron 3 veces con solución salina al 0,9% y se resuspendieron al 0,5% en solución salina¹¹. En microplacas rígidas de 96 pocillos de fondo en V (Greiner) se mezclaron, en el pocillo correspondiente, 25 mL de la suspensión de los hematíes sensibilizados con 25 mL de las diluciones de los reactivos antiglobulínicos mono-específicos¹¹. 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%¹¹. Como controles positivos se utilizaron hematíes sensibilizados con anticuerpos anti-D de los isotipos IgG, IgA y anticuerpos anti-Le a de la clase IgM, y como control negativo hematíes del grupo O no sensibilizados¹¹. La placa se incubó durante 12 horas a 4°C y la lectura se realizó después de inclinarla en un ángulo de 45° durante 10 minutos¹¹. 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 pozo¹¹.

3.3.4.2 Ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la cuantificación de IgG, IgA e IgM asociadas con los hematíes¹¹:

La técnica se realizó en placas de poliestireno de 96 pocillos de fondo plano (Nunc, Immunoplates) que se recubrieron con 100 mL, en el pocillo correspondiente, de la fracción

IgG de anticuerpos de carnero anti-IgG (g), anti-IgA (a) o anti-IgM (m) humano (Sigma) en una concentración de 5 mg/mL en solución balanceada de carbonato bicarbonato 0,05M a pH 9,6. Las placas se incubaron a 4°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 diluidos en SSBF- Tw 0,05% con albúmina bovina al 0,4% (SSBF-Tw-A) se añadieron a razón de 100 mL 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 mg/mL de IgG e IgM y de 0,0025 mg a 0,06 mg/mL de IgA. Los 4 lavados posteriores se realizaron con SSBF-Tw 0,05% y se añadieron a los pocillos apropiados 100 mL de la fracción IgG de carnero conjugado con peroxidasa (Sigma) anti-Fc de la IgG e IgM humana diluidos 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 mL 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 100mL 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 D) y de la IgM (970,000 D). De acuerdo con el número de Avogadro 1 mg contiene 370×10^{10} moléculas de IgG o IgA y 62×10^{10} moléculas de IgM. El número de moléculas de Igs por hematíe es igual a la concentración de Igs en mg/mL del eluato multiplicado por el número de moléculas de Igs en 1 mg y dividido entre el número de hematíes en 1 mL ($1,1 \times 10^{10}$ 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 más 3 desviaciones estándar de los valores obtenidos en los individuos normales¹¹.

3.4.- RESULTADOS

En la biometría hemática en los resultados ya expuestos tenemos un valor de hemoglobina de 7 gr/L, y hematocrito de 0.29 l/L, son valores disminuidos ya que lo normal a la edad de 16 años es de: Hb 13 a 14.5 y Hto 0.43 en hombre, y en mujer de Hb 12 a 14 y Hto 0.41.

En la prueba de Coombs idóneo para la determinación de anemia hemolítica autoinmune, según el caso clínico que se presenta nos dará una PAD negativa ya que los antígenos de la superficie del glóbulo rojo que recubren al anticuerpo IgG no da lugar a aglutinación.

La muestra a analizar con presencia de IgA e IgM es escasa debido a que la detección de estas inmunoglobulinas en la PAD es poco frecuente⁷.

La prueba de falciformidad será positiva ya que el caso clínico plantea una anemia hemolítica autoinmune secundaria y según el siguiente enunciado: El término drepanocitosis se aplica a la anemia hemolítica en la cual existe la HbS en los eritrocitos, siendo las manifestaciones clínicas dependientes del tipo de herencia (homocigota o heterocigota) que presente el paciente⁴.

Los 2 procedimientos técnicos empleados (microplacas y elisa) detectaron anticuerpos eritrocitarios que no fueron revelados en la PAD¹¹.

3.5.- DISCUSIÓN

La anemia hemolítica autoinmune secundaria por anticuerpos fríos, es rara en niños, pues clínicamente se observa en mayores de 12 años³. Esta constituye un cuadro agudo reversible, con una duración de 3-6 meses, donde puede existir un proceso infeccioso previo; los signos clínicos no son patognómicos de ella³.

La mayoría de los pacientes con la enfermedad de anemia hemolítica auto-inmune, presentan un positivo PAD, pero si es negativo no descarta la enfermedad. Una probabilidad de que suceda esto sería, que el límite de determinación de anticuerpos aplicando esta técnica, es 200 y 500 moléculas de IgG por cada hematíe, por la que se recomienda el empleo de técnicas con mayor grado de sensibilidad, como es ELISA, para la identificación de concentraciones bajas de anticuerpos que provocan hemólisis¹².

El caso clínico tratado se identifica la inmunoglobulina M (IgM) ya que esta es propia de una anemia hemolítica autoinmune secundaria.

3.6.- CONCLUSIÓN

En el presente trabajo se describen las pruebas a realizarse en una anemia hemolítica autoinmune, para el caso clínico tratado se realiza una biometría hemática valores con los que ya me indican una presuntiva anemia, la células falciformes son síntomas de un paciente que producen anemia hemolítica y por ello se menciona la degranocitemia, sumados a estas la prueba de Coombs ideal para la detección de esta enfermedad y un resultado negativo no descarta la enfermedad del caso, aplicando la técnica de microplacas y la cuantificación de inmunoglobulinas con mayor importancia la M (IgM).

Por todo lo expuesto y la información recopilada a más del planteamiento problema del caso clínico esta enfermedad se denomina anemia hemolítica autoinmune secundaria por anticuerpos fríos y degranocitemia.

3.7.- BIBLIOGRAFÍA:

1. Aixelá M, Basack N, Deana A, Depaula S, Donato H, Eandi S E Al. Anemia. *Soc Argentina Hematol.* 2012:31-33.
2. Fiallos Bayas LN. Intervencion de enfermeria en paciente esplenectomizado con un diagnostico de anemia hemolitica. *pdf.* 2014.
3. Dr ECF. Anemia hemolítica autoinmune por anticuerpos fríos y drepanocitemia de aparición tardía. *Medisan.* 2010;14(9):2195-2199.
4. Mireya UUP. Determinacion de celulas falciformes en adolescentes. *pdf.* 2015;1:95.
5. Alfonso Valdés ME, Bencomo Hernández A. Tratamiento de las anemias hemolíticas autoinmunes. *Rev Cuba Hematol Inmunol y Hemoter.* 2013;29(4):327-339.
6. Mex AP. La biometría hemática. *Acta Pediatr Mex.* 2016;37(4):246-249.
7. Bencomo-hernández DAA, Alfonso-valdés DME. Detección de anticuerpos IgA e IgM en la prueba de antiglobulina (Coombs). *Rev Cuba Hematol Inmunol y Hemoter.* 2010;26(4):341-344.
8. Rodríguez Castaño MJ, Rodríguez Ogando A, González Martínez F, Saavedra Lozano J, Beléndez Bieler C, Galarón García P. Anemia hemolítica autoinmunitaria por crioaglutininas secundaria a neumonía neumocócica. *An Pediatría.* 2010;72(6):440-442. doi:10.1016/j.anpedi.2010.02.006.
9. Alfonso DM elena. Caracterizacion de pacientes adultos con anemia. *Rev Cuba Hematol Inmunol y Hemoter.* 2009;1:3.
10. Jose Barreto Garcia. Preparacion y utilizacion de las celulas de control coombs. *pdf.* 2016.
11. Dr. Antonio A. Bencomo Hernández, Dra. María Elena Alfonso Valdés, Dr. Onel M. Ávila Cabrera DJCJF y DPHR. Detección y cuantificación de autoanticuerpos en los hematíes de pacientes con anemia hemolítica autoinmune con prueba de Coombs negativa. 2005:7.
12. Bencomo-hernández DA, Gutiérrez-díaz DA, Ávila- O. Caracterización de autoanticuerpos en la AHAII secundaria al tratamiento con interferón alfa. 2012;28(1).
13. Bello A. ANEMIA DE CÉLULAS FALCIFORMES. GUÍA DE MANEJO PEDIÁTRICO. *Arch Venez Pueric Pediatr.* 2012;75(2):52-58.
14. Hernández AAB, Rojas SA, González I, Monteagudo AC, Barrios LMM, Rodríguez R. Caracterización de los antígenos y anticuerpos eritrocitarios en pacientes en espera de trasplante renal. *Scielo.* 2016;32(2):223-235.
15. Torrelio EA. El hemograma como instrumento diagnóstico básico en pediatría. *Rev Soc Bol Ped.* 2011;50(2):139-146.