

Aspectos demográficos, clínicos, diagnósticos y terapéuticos de la Esferocitosis hereditaria en nuestro país. Estudio sobre 143 casos pertenecientes a 84 familias

Demographic, clinical, diagnostic and therapeutic data of hereditary spherocytosis in our country. A study on 143 cases belonging to 84 families

Trabajo Premiado en el XXI Congreso Argentino de Hematología

Donato H^{(a)(b)*}, Crisp RL^{(a)(c)(d)*}, García E^(e), Rapetti MC^(b), Solari L^(f), Vota D^(d), Chamorro ME^(d), Schwartzman G^(a), Miguez G^(g), Gammella D^(f), Vittori D^(d), Nesse A^(d)

*LOS DOS PRIMEROS AUTORES CONTRIBUYERON POR IGUAL EN ESTE TRABAJO

^(a)CONSULTORIOS DE HEMATOLOGÍA INFANTIL; ^(b)SECCIÓN HEMATOLOGÍA/ONCOLOGÍA, HOSPITAL DEL NIÑO DE SAN JUSTO; ^(c)DIVISIÓN HEMATOLOGÍA CLÍNICA, HOSPITAL NACIONAL PROF. A. POSADAS; ^(d)DEPARTAMENTO DE QUÍMICA BIOLÓGICA, FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES, UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES; ^(e)DIVISIÓN HEMATOLOGÍA Y ONCOLOGÍA PEDIÁTRICA, HOSPITAL NACIONAL PROF. A. POSADAS; ^(f)LABORATORIO DE CITOMETRÍA, HOSPITAL NACIONAL PROF. A. POSADAS; ^(g)SERVICIO DE MEDICINA TRANSFUSIONAL, HOSPITAL NACIONAL PROF. A. POSADAS.

hcdonato@gmail.com.

Fecha de recepción: 27/12/2013
Fecha de aprobación: 10/01/2014

HEMATOLOGÍA, Vol.18 N° 1: 9-16
Enero - Abril 2014



ARTÍCULO ORIGINAL

Resumen

INTRODUCCIÓN. La esferocitosis hereditaria (ESH) es la anemia hemolítica hereditaria más frecuente, pero es muy escasa la información sobre su comportamiento en nuestro país.

OBJETIVOS. Comunicar aspectos demográficos, clínicos, diagnósticos y terapéuticos de la enfermedad.

PACIENTES Y MÉTODOS. Se revisaron datos de los pacientes estudiados desde 2007, año en que incorporamos al estudio de laboratorio clásico - fragilidad osmótica eritrocitaria (FOE) y autohemólisis (AH) - criohemólisis hipertónica (CH), citometría de flujo con eosina-5'-maleimida (5'EMA-CF) y electroforesis de proteínas de membrana (SDS-PAGE); desde 2009 también incorporamos FOE por citometría de flujo (FOE-CF). Criterios diagnósticos para ESH: visualización de esferocitos en frotis y dos pruebas positivas. Portador sano (PS): familiar con deficiencia de proteína de membrana, pero asintomático y con las otras

pruebas negativas.

RESULTADOS. Se analizaron 281 individuos, identificando 121 ESH y 22 PS. Porcentajes de positividad de las pruebas: FOE 92,2%, AH 75,7%, SDS-PAGE 72,2%, CH 93,3%, 5'EMA-CF 91,3%, FOE-CF 86,3%. De los 69 casos en que se realizaron las tres nuevas técnicas, todos tuvieron al menos una positiva; 63 (91,3%) presentaron 2 positivas. La SDS-PAGE mostró que las deficiencias más frecuentes fueron ankirina y espectrina. Clasificación por formas clínicas: leves 33,7%, moderadas 44,2%, severas 22,1%. Presentaron manifestaciones en periodo neonatal el 80,9% de los casos, siendo mayor la incidencia en las formas moderadas/severas que en las leves ($p < 0,05$). No hubo diferencia en el resultado de las pruebas entre los subgrupos de severidad. Se esplenectomizaron 24 pacientes. Todos alcanzaron valores de hemoglobina normales después de la operación, sostenidos en el tiempo. No hubo ningún

episodio infeccioso severo.

CONCLUSIONES. Las deficiencias más frecuentes en nuestro país son ankirina y espectrina. El uso simultáneo de CH, 5'EMA-CF y FOE-CF permite diagnosticar más del 91% de los casos; la realización de las pruebas convencionales quedaría limitada a casos con fuerte sospecha diagnóstica no confirmados por las mismas. A excepción de mayor incidencia de manifestaciones neonatales, el comportamiento clínico en nuestra población no presentó diferencias con lo informado por la mayoría de los autores. No hubo casos de muerte o sepsis fulminante postesplenectomía.

Palabras clave: esferocitosis hereditaria, anemia hemolítica, membrana eritrocitaria, citometría de flujo, esplenectomía.

Abstract

BACKGROUND. Hereditary spherocytosis (HS) is the most common inherited hemolytic anemia; however, information concerning its behavior in our country is scarce.

AIM. To report demographic, clinical, diagnostic, and therapeutic data on the disease.

PATIENTS AND METHODS. In 2007 we started performing hypertonic cryohemolysis (HC), 5'EMA flow cytometry (5'EMA-FC), and membrane proteins electrophoresis (SDS-PAGE) in addition to standard tests - osmotic fragility (OF) and autohemolysis (AH) - for evaluation of patients with HS. Since 2009 we added flow cytometric OF (OF-FC). Data from all patients studied from 2007

were analyzed. Diagnostic criteria for HS: spherocytes in blood smear plus two positive tests. Silent carrier (SC): family member with protein deficiency but otherwise asymptomatic and negative for other tests.

Results. The study included 281 individuals; 121 HS and 22 SC were identified. Tests positivity rates were: OF 92.2%, AH 75.7%, SDS-PAGE 72.2%, HC 93.3%, 5'EMA-FC 91.3%, OF-FC 86.3%. All of the 69 cases in whom the three new procedures were performed had at least one positive test; 63 of them (91.3%) presented two positive tests. The SDS-PAGE showed that the most frequent deficiencies were ankyrin and spectrin. Classification by severity of anemia: mild 33.7%, moderate 44.2%, severe 22.1%. Neonatal manifestations were seen in 80.9% of cases; the incidence was higher in moderate/severe than in mild anemias ($p < 0.05$). Comparison of tests results in relation to severity showed no difference between groups. Splenectomy was performed in 24 patients. All of them reached sustained normal hemoglobin values after the procedure. No life-threatening infection occurred.

CONCLUSIONS. Most frequent deficiencies in our country are ankyrin and spectrin. The simultaneous use of HC, 5'EMA-FC y OF-FC allows confirming the diagnosis in more than 91% of cases. Except for a higher incidence of neonatal manifestations, the clinical pattern in our population showed no difference with that reported by most authors. No case of death or overwhelming fulminant sepsis post-splenectomy was seen.

Keywords: hereditary spherocytosis, hemolytic anemia, red blood cell membrane, flow cytometry, splenectomy.

La esferocitosis hereditaria (ESH) es la anemia hemolítica hereditaria más frecuente en Argentina. A pesar de ello, es muy escasa la información sobre su comportamiento en nuestro país. El objetivo de este trabajo es comunicar aspectos demográficos, clínicos, diagnósticos y terapéuticos, de la población atendida por nuestro grupo de trabajo a partir de la implementación de nuevas pruebas diagnósticas.

Pacientes y métodos

Se revisaron las historias clínicas de los pacientes estudiados desde 2007, año en que incorporamos al estudio de laboratorio clásico, que incluía fragilidad osmótica eritrocitaria (FOE) y autohemólisis (AH), las pruebas de criohemólisis hipertónica (CH), citometría de flujo con eosina-5'-maleimida (5'EMA-CF) y electroforesis de proteínas de membrana (SDS-

PAGE); a partir de 2009 también realizamos rutinariamente la FOE por citometría de flujo (FOE-CF). Se analizaron: edad, sexo, transmisión genética, manifestaciones clínicas, severidad, eficacia diagnóstica de las pruebas, proteínas deficientes, complicaciones y manejo terapéutico.

Las nuevas pruebas se realizaron según las técnicas previamente descriptas.^(1, 2) Los valores de corte establecidos en nuestro laboratorio mediante curvas ROC son: CH, >2,8%; 5'EMA-CF, disminución de la intensidad media de fluorescencia >17%; FOE-CF, porcentaje de células residuales <50,5%.

Los criterios diagnósticos para ESH fueron visualización de esferocitos en el extendido de sangre periférica y al menos dos pruebas positivas. Los grados de severidad, en los pacientes no esplenectomizados, se definieron, según criterios de Mariani y col.⁽³⁾

como severa (hemoglobina <8 g/dL), moderada (hemoglobina 8-10 g/dL) y leve (hemoglobina >10 g/dL). Los familiares sanos con alguna deficiencia de proteína de membrana, pero por lo demás asintomáticos y con las otras pruebas negativas, fueron considerados portadores sanos (PS). El análisis estadístico fue realizado usando SPSS v11.5. La relación entre resultados de las pruebas y severidad de la enfermedad fue evaluada por métodos no-paramétricos (Kruskall-Wallis). Los resultados se presentan como media \pm desvío estándar o como mediana. Se definió significancia como $p < 0,05$.

Resultados

Se analizaron los datos correspondientes a 281 individuos. Se incluyeron pacientes de novo, otros previamente diagnosticados como ESH (por FOE y AH), y familiares directos. Sobre 84 familias afectadas, se identificaron 121 pacientes con ESH (60 estudiados por diagnóstico presuntivo de ESH, 52 con diagnóstico previo de ESH y 9 familiares) y 22 PS. Su edad al momento del estudio osciló entre 2 días y 63 años, siendo 65 de ellos menores de 18 años. La edad al diagnóstico inicial también varió entre 2 días y 63 años, con la siguiente distribución: <1 mes, 20,7%; 1-12 meses, 25%; 1-12 años, 25%; 12-18 años, 4,3%; y >18 años, 25%. Se determinó que la transmisión era dominante en 65 (84%) y no-dominante en 12 (16%) pacientes, sobre un total de 77 casos en que se tuvo certeza del diagnóstico de los padres.

El tiempo de seguimiento de los pacientes con ESH evaluables para evolución fue de 1 mes a 33 años.

DATOS DE LABORATORIO

CH y 5'EMA-CF se realizaron en todos los pacientes estudiados desde 2007, y la FOE-CF en todos los estudiados desde 2009. Los porcentajes de positividad de las pruebas se muestran en la **figura 1**.

Dieciocho pacientes (14,9%) presentaron sólo 2 pruebas positivas. Al evaluar los 69 casos en quienes fueron realizadas las tres nuevas técnicas, se observó que todos habían tenido al menos una prueba positiva; 63 de ellos (91,3%) presentaron dos pruebas positivas. La SDS-PAGE, realizada en 96 individuos, permitió establecer que las deficiencias más frecuentemente encontradas en los pacientes con ESH fueron ankirina y espectrina (**Figura 2**).

La espectrina fue la deficiencia más común en las formas dominantes.

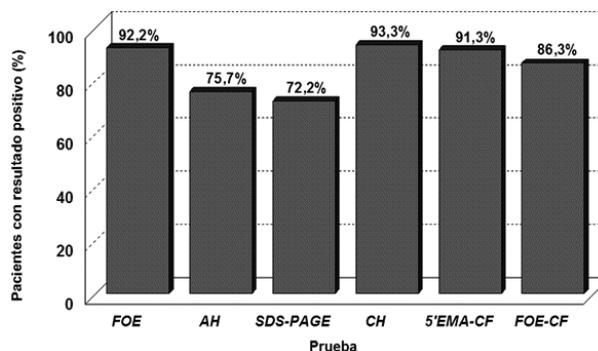


Figura 1: Porcentajes de positividad de las distintas pruebas en pacientes con esferocitosis hereditaria. FOE: fragilidad osmótica eritrocitaria; AH: autohemólisis a las 48 hs; SDS-PAGE: electroforesis de proteínas de membrana; CH: criohemólisis hipertónica; 5'EMA-CF: citometría de flujo con eosina-5'-maleimida; FOE-CF: fragilidad osmótica eritrocitaria por citometría de flujo; ESH: esferocitosis hereditaria.

DATOS CLÍNICOS

Se clasificó por formas clínicas a 86 pacientes evaluables para seguimiento: 29 leves (33,7%), 38 moderadas (44,2%) y 19 severas (22,1%). Se detectaron 5 casos de crisis aplásica por parvovirus B19. Se pudo establecer que el 67,2% de los pacientes hacían repetidamente crisis hemolíticas severas al cursar episodios febriles.

Sobre 89 casos en los que se pudo investigar, 72 (80,9%) habían presentado manifestaciones en periodo neonatal. Se observó una incidencia significativamente mayor en las formas moderadas (91,7%) o severas (91,7%) que en las leves (60,7%) ($p < 0,05$). Requirieron luminoterapia 57 pacientes y exsangui-neotransfusión 4 casos.

No se observó diferencia significativa en el resultado de las pruebas entre los subgrupos de severidad (**Figura 3**).

Presentaron litiasis biliar el 21% de los pacientes. La edad al diagnóstico fue $20,7 \pm 20,1$ años (4-59 años; mediana 10,5 años).

TRATAMIENTO

La cantidad de transfusiones recibidas varió entre 0 y 29 (media \pm DS: $3,6 \pm 5,8$; mediana 1,0). El 37,7% de los pacientes no recibió ninguna transfusión.

Fueron esplenectomizados 24 pacientes. La edad media al procedimiento fue $16,7 \pm 17,0$ años (mediana 11,6 años). En 15 pacientes (62,5%) se realizó por vía laparoscópica, en 3 (12,5%) por laparotomía y en 5 (20,8%) se comenzó por laparoscopia y terminó por laparotomía.

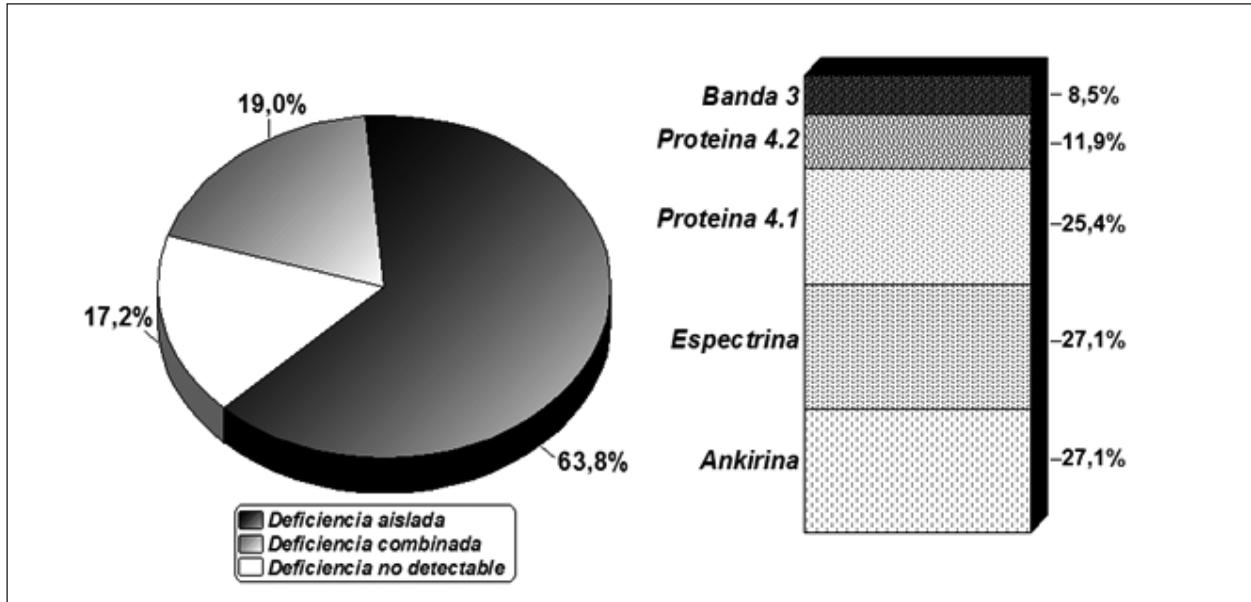


Figura 2: Prevalencia de deficiencias de proteínas de membrana detectadas en pacientes con esferocitosis hereditaria.

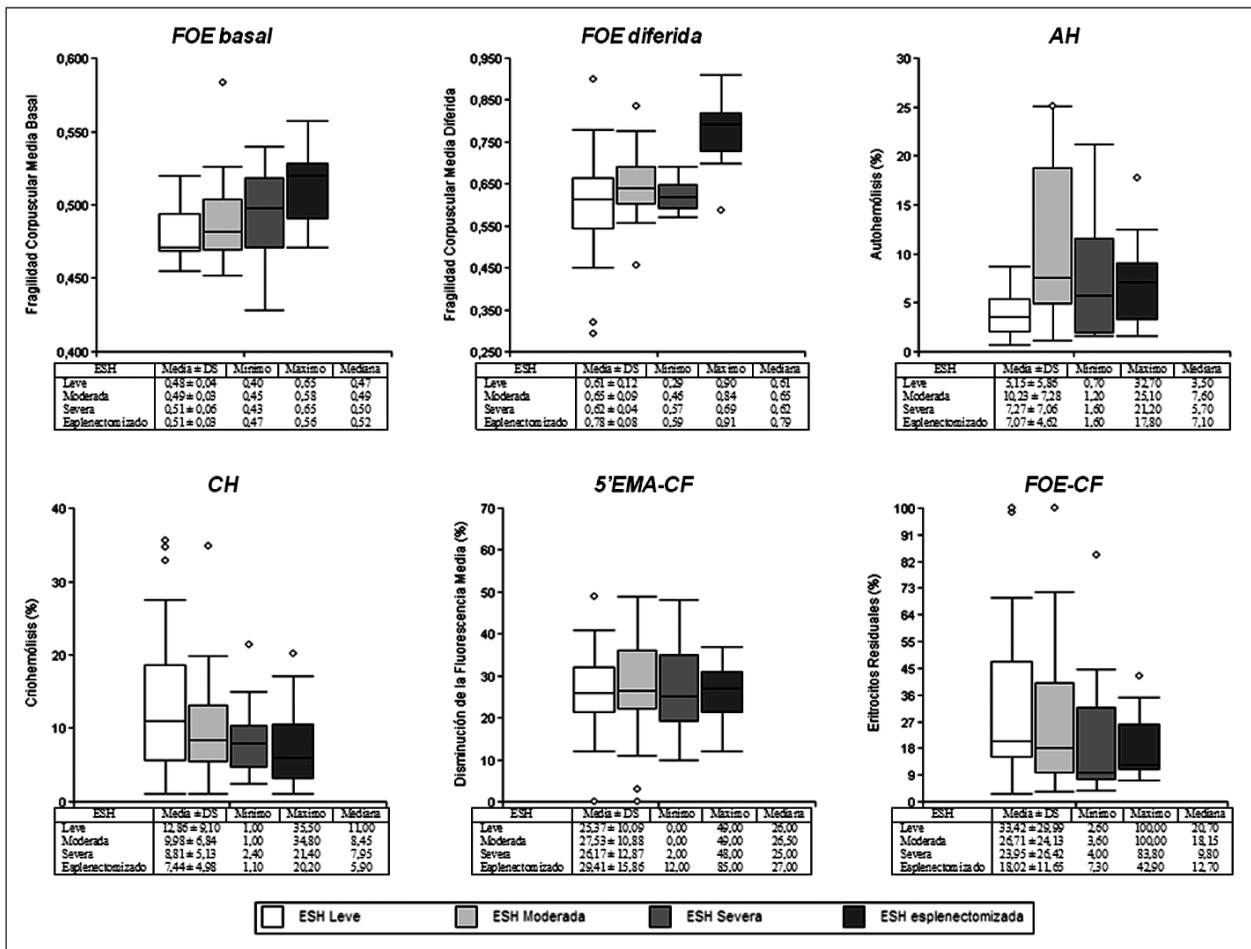


Figura 3: Relación entre resultados de las pruebas de laboratorio y severidad de la anemia.

ESH: esferocitosis hereditaria; FOE: fragilidad osmótica eritrocitaria; AH: autohemólisis a las 48 hs; CH: criohemólisis hipertónica; 5'EMA-CF: citometría de flujo con eosina-5'-maleimida; FOE-CF: fragilidad osmótica eritrocitaria por citometría de flujo.

Todos los pacientes alcanzaron valores de hemoglobina normales después de la operación, sostenidos durante el tiempo de seguimiento. La única complicación perioperatoria fue perforación diafragmática intraoperatoria en un niño. En un solo paciente se detectó la persistencia de un bazo supernumerario luego de la esplenectomía, pero hasta la fecha continúa con hemoglobina en valores normales. Todos los <18 años recibieron vacunación previa para estreptococo, neumococo y H.Influenzae y profilaxis antibiótica con penicilina/amoxicilina luego de la operación. No se registró ningún episodio infeccioso severo hasta la fecha.

Se realizó colecistectomía en 14 de los 121 pacientes, realizada antes de la esplenectomía en 6 casos y simultánea con la misma en 8 casos.

Discusión

La ESH ocurre en todos los grupos étnicos y raciales, siendo particularmente frecuente en Europa del norte, con una prevalencia de 1 en 5.000 personas, aunque es probable que sea 4-5 veces mayor. No hay estimaciones confiables en otras poblaciones, incluso en nuestro país, pero su frecuencia parece ser especialmente baja en África y el sudeste asiático.

Es transmitida en forma autosómica dominante en aproximadamente el 75% de los casos. En el 25% restante, las llamadas formas recesivas o no-dominantes, ambos padres son hematológicamente normales y las pruebas de laboratorio son normales o solo presentan alteraciones mínimas. En estas familias la transmisión sería autosómica recesiva, pero no pudiéndose descartar en forma absoluta la presencia de casos de transmisión autosómica dominante con penetrancia reducida; en un 5-10% de los pacientes se considera que se trata de una nueva mutación. Un estudio realizado en Italia demostró que la ocurrencia de novo de mutaciones no-dominantes es seis veces más frecuente que para las mutaciones recesivas.⁽⁴⁾ Nuestros resultados, que muestran un 84% de formas dominantes, son similares a los de algunos países latinoamericanos y europeos.^(5,6)

La asociación entre tipo de transmisión y severidad de la enfermedad es motivo de controversia; algunos autores opinan que las formas no-dominantes son más severas que las dominantes.^(4,7) Sin embargo, en nuestros pacientes no pudimos demostrar dicha relación, coincidiendo con lo informado por Mariani y col en su serie de 300 pacientes.⁽³⁾

En nuestra población, al igual que lo generalmente aceptado,⁽⁸⁾ la gran mayoría de los casos se diagnosticó en lactantes o niños. Sin embargo, llama la atención que en algunos pacientes el diagnóstico recién se haya realizado en sexta o séptima décadas de la vida, lo que puede estar indicando subestimación o desconocimiento de los síntomas de la enfermedad, así como falta de acceso a las pruebas de laboratorio específicas.

En la actualidad se dispone de varias pruebas confirmatorias para diagnosticar ESH. Desde 2007 venimos evaluando la utilidad de varias de ellas. Es sabido que ninguna de las pruebas puede detectar el 100% de los pacientes,^(1,3,7-9) y así sucedió también en nuestra serie. La curva de FOE es aun considerada como el "patrón oro" por algunos autores,^(7,8) a pesar de no ser útil para diferenciar ESH de otras patologías con esferocitos circulantes, como anemia hemolítica autoinmune (AHAI), incompatibilidad ABO o eliptocitosis esferocítica.^(10,11) En nuestra serie, la FOE tuvo una positividad del 92%, superior a la informada por otros autores; consideramos que esto es debido a que para considerar positiva a la prueba evaluamos no solo la fragilidad corpuscular media sino también su gráfica. La SDS-PAGE es una técnica laboriosa que permitió demostrar cuál era la proteína de membrana deficiente en poco más del 70% de nuestros pacientes, porcentaje coincidente con el informado por la mayoría de los autores.^(4,5) Su presunta utilidad como marcador de severidad según cuál sea la deficiencia, no pudo ser confirmada en nuestro estudio, siendo actualmente motivo de controversia.⁽³⁾ Por lo tanto, coincidimos con la mayoría de los autores en que no debe utilizarse como prueba de rutina para el diagnóstico de ESH^(3,8,10) En nuestro caso fue importante para confirmar, sobre un número mayor de casos, nuestros datos preliminares en los que comunicamos por primera vez las deficiencias más frecuentemente encontradas en nuestro país,⁽¹⁾ que corresponden a ankirina y espectralina, al igual que lo informado en otras poblaciones hispanoamericanas.^(5,6) También fue útil para detectar los casos de portadores sanos.

La CH evalúa la hemólisis de los eritrocitos suspendidos en un medio hipertónico a los que se somete a un brusco cambio de temperatura. En estas condiciones, los esferocitos son más susceptibles a la hemólisis que los eritrocitos normales. Como la prueba no depende de la relación superficie/volumen

sino de la integridad de las proteínas de membrana, da resultado normal en la esferocitosis secundaria a AHAI. Si bien hay opiniones controvertidas respecto a su utilidad,^(3, 7-10) en nuestro estudio fue una de las dos pruebas con mayor índice de positividad (93,3%). La 5^ªEMA-CF evalúa la intensidad de fluorescencia emitida por el reactivo eosina-5^ª-maleimida, que interacciona covalentemente con proteínas de la membrana, en especial banda 3.⁽¹¹⁾ En la ESH, cualquiera sea la proteína deficiente primaria, se obtiene una disminución de la fluorescencia debido a la pérdida de membrana conteniendo las proteínas que reaccionan con el reactivo fluorescente. Dado que en otras anemias hemolíticas la fluorescencia emitida es normal, esta prueba también permite diferenciar los esferocitos de la ESH de aquellos presentes en otras patologías.⁽¹¹⁾ En nuestra serie fue positiva en el 91,3% de los casos, por lo que fue una de las pruebas con mayor positividad. Estos resultados coinciden con la alta especificidad (96-99%) y sensibilidad (89-97%) informada por otros autores.⁽¹⁰⁻¹⁴⁾ La FOE-CF cuantifica los eritrocitos resistentes a la hemólisis que se genera por el agregado de agua a una suspensión de eritrocitos en solución fisiológica. El número de eritrocitos suspendidos se determina por citometría de flujo en tiempo real antes y después del agregado de agua.⁽¹⁵⁾ Nuestro índice de positividad superior al 86% coincide con los informados por otros autores.^(14,15) Uno de nuestros objetivos al comenzar a evaluar nuevas técnicas diagnósticas fue establecer si algunas de ellas, asociadas o no a las tradicionales, podían simplificar la metodología de estudio alcanzando a la vez mayor sensibilidad y especificidad. En un estudio anterior habíamos comunicado que alguna de las dos nuevas pruebas (CH y 5^ªEMA-CF) era positiva en el 93,5% de los pacientes.⁽¹⁾ Esta observación se corresponde con la opinión de Bolton-Maggs y col, que recomiendan a ambas como las pruebas diagnósticas más útiles.⁽¹⁰⁾ Con la incorporación de la FOE-CF a esta asociación logramos que en el 100% de los casos al menos una prueba fuera positiva. Se observó además que así se pudieron cumplimentar los criterios diagnósticos para ESH – 2 pruebas positivas – en más del 91% de estos pacientes. Estas tres son técnicas de realización sencilla, que además permiten alcanzar resultados en el mismo día de la extracción. Pueden llevarse a cabo tanto con sangre venosa como capilar, por lo que requieren un volumen

de muestra muy pequeño, facilitando un diagnóstico más precoz en neonatos y lactantes pequeños.⁽²⁾ En nuestro país no se han comunicado hasta la fecha otras experiencias con el uso de estas tres pruebas. A la luz de nuestros resultados, consideramos que con la realización rutinaria en forma simultánea de CH, 5^ªEMA-CF y FOE-CF se puede llegar al diagnóstico de ESH sin necesidad de realizar las tradicionales pruebas de FOE y AH. Sólo en el 9% de los casos se requerirá de la realización de pruebas adicionales para arribar al diagnóstico.

En el recién nacido la ictericia es el síntoma más frecuente, presente en más del 90% de los pacientes diagnosticados en esta etapa, asociado a anemia en 50-80% de los casos.⁽¹⁶⁾ Se estima que aproximadamente 50% de los pacientes con ESH presentan el antecedente de ictericia neonatal, estando siempre latente el riesgo de kernicterus.^(16, 17) Saada y col comunicaron que el 1% de los neonatos que requerían luminoterapia padecían ESH, y Christensen y Henry recientemente han llamado la atención sobre su subdiagnóstico, postulando que la ESH es una causa significativamente ignorada de hiperbilirrubinemia neonatal.⁽¹⁸⁾ El antecedente de ictericia y/o anemia neonatal estuvo presente en el 84% de nuestros pacientes, valor considerablemente superior al 50-65% informado por el grupo italiano y otros.^(8, 10, 16, 17) No tenemos explicación para esta diferencia, pero no puede descartarse la influencia de factores genéticos que determinen un distinto comportamiento de la enfermedad en este periodo.

La distribución de las distintas formas clínicas fue similar a la de otras series de pacientes.^(3, 8) No se pudo demostrar asociación entre resultados de las pruebas de laboratorio y la evolución del paciente. A diferencia de otros autores,^(8, 16) observamos que la incidencia de manifestaciones neonatales fue mayor en los casos moderados y severos.

La litiasis biliar es la complicación más frecuente de la ESH, ocurriendo en 37-47% de los pacientes. En una búsqueda sistemática realizada a pacientes de 4 a 22 años de edad, Tamary y col encontraron una incidencia de 41%, por lo que recomiendan examen ecográfico anual a partir de los 4 años.⁽¹⁹⁾ Es probable que nuestra menor incidencia se deba al hecho de que recién en los últimos años hemos comenzado la detección precoz de la litiasis.

La esplenectomía corrige la sintomatología de la enfermedad en casi todos los pacientes con ESH,

debido a que elimina el principal órgano donde los eritrocitos sufren severos cambios y son destruidos. La anemia y la hiperbilirrubinemia se corrigen totalmente, el recuento reticulocitario desciende a valores normales o cercanos a lo normal y la sobrevida eritrocitaria se normaliza.⁽⁸⁾ En la totalidad de los pacientes de nuestro grupo en los que se realizó se obtuvo remisión completa de la sintomatología. Si bien la sepsis fulminante es la mayor complicación postesplenectomía, se desconoce su real incidencia actual en pacientes que han recibido prevención con vacunas y profilaxis antibiótica. En nuestra serie no hemos tenido ningún caso, coincidiendo con otros informes.⁽²⁰⁾

Las principales conclusiones de este estudio fueron: a) Las deficiencias más frecuentes en nuestro país son ankirina y espectralina; b) El uso simultáneo de CH, 5'EMA-CF y FOE-CF permite diagnosticar más del 91% de los casos; la realización de las pruebas convencionales debería quedar limitada a aquellos casos con fuerte sospecha diagnóstica que no pudieron ser confirmados por las tres nuevas pruebas; c) A excepción de una mayor incidencia de manifestaciones neonatales, el comportamiento clínico de la enfermedad en nuestra población no presentó diferencias con lo informado por la mayoría de los autores; d) No se observó ningún caso de muerte o sepsis fulminante postesplenectomía.

Apéndice

El grupo de trabajo de este estudio está conformado de la siguiente manera.

Hospital Nacional Prof. Alejandro Posadas: Hematología Clínica: Renée Crisp, Graciela Alfonso; Citometría de Flujo: Daniel Gammella, Liliana Solari, María Belén Venegas; Onco-Hematología Infantil: Eliana García, Cecilia Ricchieri, Armando Picón; Medicina Transfusional: Sergio Caldarola, Gabriela Miguez. **Facultad de Ciencia Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires:** Departamento de Química Biológica: Renée Crisp, Alcira Nesse, María Eugenia Chamorro, Daiana Vota, Daniela Vittori. **Consultorios de Hematología Infantil:** Hugo Donato, Gabriel Schwartzman, Renée Crisp. **Hospital del Niño de San Justo: Hematología/Oncología:** Hugo Donato, María Cristina Rapetti.

Declaración de conflictos de interés:

Los autores declaran no poseer conflictos de intereses.

Bibliografía

1. Crisp RL, Solari L, Vota D, y col. A prospective study to assess the predictive value for hereditary spherocytosis using five laboratory tests (cryohemolysis test, eosin-5'-maleimide flow cytometry, osmotic fragility test, autohemolysis test, and SDS-PAGE) on 50 hereditary spherocytosis families in Argentina. *Ann Hematol* 2011; 90: 625-634.
2. Crisp RL, Solari L, Gammella D, Schwartzman GA, Rapetti MC, Donato H. Use of capillary blood to diagnose hereditary spherocytosis. *Pediatr Blood Cancer* 2012; 59: 1299-1301.
3. Mariani M, Barcellini W, Vercellati C, y col. Clinical and hematologic features of 300 patients affected by hereditary spherocytosis grouped according to the type of the membrane protein defect. *Haematologica* 2008; 93: 1310-1317.
4. Miraglia del Giudice E, Nobili B, Francese M, y col. Clinical and molecular evaluation of non-dominant hereditary spherocytosis. *Br J Haematol* 2001; 112: 42-47.
5. Sánchez-López JY, Camacho AL, Magaña MT, Ibarra B, Perea FJ. Red cell membrane protein deficiencies in Mexican patients with hereditary spherocytosis. *Blood Cells Mol Dis* 2003; 31: 357-359.
6. Saad ST, Costa FF, Vicentin DL, Salles TS, Pranke PH. Red cell membrane protein abnormalities in hereditary spherocytosis in Brazil. *Br J Haematol* 1994; 88: 295-299.
7. Iolascon A, Avvisati RA. Genotype/phenotype correlation in hereditary spherocytosis. *Haematologica* 2008; 93: 1283-1288.
8. Grace RF, Lux SE. Disorders of the red cell membrane. En: *Hematology of Infancy and Childhood*. Orkin SH, Nathan DG, Ginsburg D, Fisher DE, Lux SE (eds). Philadelphia, Saunders, 2009, p.659-838.
9. Bianchi P, Fermo E, Vercellati C, y col. Diagnostic power of laboratory tests for hereditary spherocytosis: a comparison study in 150 patients grouped according to molecular and clinical characteristics. *Haematologica* 2012; 97: 516-523.
10. Bolton-Maggs PHB, Stevens RF, Dodd NJ, Lamont G, Tittensor P, On behalf of the General Haematology Task Force of the British Committee for Standards in Haematology. Guidelines for the diagnosis and management of hereditary spherocytosis. *Br J Haematol* 2004; 126: 455-474.

11. King MJ, Behrens J, Rogers C, Flynn C, Greenwood D, Chambers K. Rapid flow cytometric test for the diagnosis of membrane cytoskeleton-associated haemolytic anaemia. *Br J Haematol* 2000; 111: 924-933.
12. Girodon F, Garçon L, Bergoin E, y col. Usefulness of the eosin-5'-maleimide cytometric method as a first-line screening test for the diagnosis of hereditary spherocytosis: comparison with ektacytometry and protein electrophoresis. *Br J Haematol* 2008; 468-470.
13. Kar R, Rao S, Srinivas UM, Mishra P, Pati HP. Clinico-hematological profile of hereditary spherocytosis: experience from a tertiary care center in North India. *Hematology* 2009; 14: 164-167.
14. Warang P, Gupta M, Kedar P, y col. Flow cytometric osmotic fragility - An effective screening approach for red cell membranopathies. *Cytometry Part B* 2011; 80B: 186-190.
15. Won DI, Suh JS. Flow cytometric detection of erythrocyte osmotic fragility. *Cytometry Part B* 2009; 76B: 135-141.
16. Burman D. Congenital spherocytosis in infancy. *Arch Dis Child* 1958; 33: 335-351.
17. Pinto L, Iolascon A, Miraglia del Giudice E, y col. The Italian pediatric survey on hereditary spherocytosis. *Int J Pediatr Hematol Oncol* 1995; 2: 43-47.
18. Christensen RD, Henry E. Hereditary spherocytosis in neonates with hyperbilirubinemia. *Pediatrics* 2010; 125: 120-125.
19. Tamary H, Aviner S, Freud E, y col. High incidence of early cholelithiasis detected by ultrasonography in children and young adults with hereditary spherocytosis. *J Pediatr Hematol Oncol* 2003; 25: 952-954.
20. Jugenburg M, Haddock G, Freedman MH, Ford-Jones L, Ein SH. The morbidity and mortality of pediatric splenectomy: Does prophylaxis make a difference? *J Pediatr Surg* 1999; 34: 1064-1067.