



Determinación de anticuerpos específicos en el laboratorio clínico: desafíos actuales y perspectivas según la experiencia en el Hospital San Juan de Dios

Marvin Durán Delgado^{1,2}, Carlos Varela Briceño¹, Diego Morazán Fernández^{1,3}, Mónica Flores Guevara¹, Jimena Casasola Bado¹, Pamela Serrano Miranda¹, Francisco Rodríguez Amador^{1,3}

AFILIACIONES: ¹Laboratorio clínico, Hospital San Juan de Dios, Caja costarricense del seguro social, San José, Costa Rica; ² Escuela de medicina, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica; ³ Facultad de microbiología, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica

RESUMEN. En los últimos años ha existido un crecimiento dinámico y sostenido en la determinación de anticuerpos específicos en diversas áreas del laboratorio como enfermedades infecciosas, autoinmunidad, inmunogenética e histocompatibilidad. Los anticuerpos específicos como analitos se caracterizan por una alta heterogeneidad, lo que dificulta de manera especial cualquier iniciativa de estandarización. En este artículo se presenta una visión global de los inmunoensayos más representativos de cada caso y se comenta sobre los desafíos más importantes que se han detectado en la experiencia de un laboratorio nacional, adicionalmente se mencionan algunas de las medidas que el laboratorio ha implementado para mejorar el desempeño de estas determinaciones, finalmente se realiza una revisión de algunas potenciales oportunidades de mejora para los laboratorios clínicos que se enfrenten a desafíos similares.

PALABRAS CLAVE. Inmunoensayos, Anticuerpos específicos, Estandarización, Armonización, Analitos heterogéneos

ABSTRACT. In recent years, there has been a dynamic and sustained growth in the determination of specific antibodies in various laboratory areas such as infectious diseases, autoimmunity, immunogenetics, and histocompatibility. Specific antibodies as analytes are characterized by high heterogeneity, which makes any standardization initiative particularly difficult. This article presents an overview of the most representative immunoassays for each case and discusses the most significant challenges identified in the experience of a national laboratory. Additionally, it mentions some of the measures that the laboratory has implemented to improve the performance of these determinations. Finally, it reviews some potential improvement opportunities for clinical laboratories facing similar challenges.

KEYWORDS. Immunoassays, specific antibodies, standardization, harmonization, heterogeneous analytes

Dirección para correspondencia,
dirigida a:

Marvin Durán Delgado
mduran@ccss.sa.cr

Recibido: 18 de setiembre del 2025

Aceptado: 7 de enero del 2026

Publicado: 30 de abril del 2026

Los artículos publicados en La Revista del Colegio de Microbiólogos y Químicos Clínicos se distribuyen bajo la licencia **Creative Commons Atribución–NoComercial–Compartir Igual 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0)**.

doi.org/10.66675/ENYL7402

En la actualidad hasta un 80% de las decisiones clínicas se fundamentan o apoyan en la información provista por el laboratorio clínico. La seguridad y eficacia de estas decisiones solo se puede lograr mediante pruebas de laboratorio confiables, que provean resultados representativos de la condición del paciente. Un mal desempeño de las pruebas de laboratorio puede tener consecuencias negativas para la toma de decisiones clínicas, para el sistema sanitario y para el paciente (Salinas, 2023).

En este contexto, la estandarización de las medidas en el laboratorio clínico contribuye de forma significativa, promoviendo mecanismos para que los resultados de las pruebas sean consistentes y comparables entre los diferentes laboratorios (Vesper et al., 2016). Un mecanismo muy común para promover la estandarización en el laboratorio clínico es la utilización de una serie de procedimientos de calibración documentados y trazables a un material de referencia, dichas calibraciones tienen la capacidad de vincular una señal emitida por un instrumento con una cantidad o concentración de un analito mediante una relación matemática, de este modo las mediciones pueden ser consistentes y comparables entre distintos instrumentos y laboratorios (Panteghini, 2007).

La existencia de pruebas de laboratorio estandarizadas ha permitido que en múltiples consensos o guías clínicas se establezcan límites de decisión específicos para el diagnóstico y la intervención terapéutica de los pacientes. Adicionalmente, la gran mayoría de los procedimientos de aseguramiento y control de calidad que se aplican en los laboratorios clínicos fueron diseñados sobre la base de analitos que se caracterizan por tener altos niveles de trazabilidad metrológica para los cuales se dispone de materiales de referencia primarios, estos analitos se conocen como analitos tipo A. Por otro lado, existe un grupo de analitos que se caracterizan por ser heterogéneos, en estos casos la medición se puede ver influenciada por una gran variedad de factores biológicos y metodológicos, estos analitos se conocen como tipo B (Panteghini, 2007). Los anticuerpos específicos se consideran analitos tipo B, en general son moléculas heterogéneas por factores como la clase de anticuerpos, la subclase, la afinidad y la avidéz. Adicionalmente los anticuerpos pueden circular libres o en forma de inmunocomplejos, pueden reconocer al mismo antígeno en diversos epítomos que pueden ser lineales o conformacionales. Muchas de estas características son dinámicas y pueden variar a través del tiempo (W. J. Dimech et al., 2023).

En el caso de los inmunoensayos para la determinación de anticuerpos específicos la identificación o medición de los mismos se basa principalmente de su actividad biológica, en este caso específico su capacidad de unión (W. Dimech et al., 2015). Esto es una diferencia importante con respecto a los analitos tipo A, que podrían detectarse y medirse simplemente con estar presentes en cantidades suficientes en la matriz de medición (W. Dimech, 2021). Estas diferencias entre los analitos de ambos grupos pueden impactar de manera importante la validez analítica, la validez clínica y la utilidad clínica de las pruebas de laboratorio.

Hay muchos factores adicionales que pueden contribuir a la heterogeneidad en las mediciones de anticuerpos específicos. En los inmunoensayos comercialmente disponibles la fuente de antígeno utilizada para la captura de anticuerpos puede variar en origen y cantidad. Los antígenos utilizados por los fabricantes suelen ser recombinantes o nativos, esto tiene implicaciones prácticas pues para algunas aplicaciones parece ser que los antígenos nativos presentan mejor desempeño que los antígenos recombinantes dado que los primeros tienen capacidad de representar los epítomos conformacionales de forma muy similar a como se presentan en condiciones biológicas. Por otro lado, los antígenos recombinantes pueden dar lugar a epítomos lineales o desnaturalizados, los cuales no se expresan en condiciones biológicas y generan falsas reacciones.

En el área de la histocompatibilidad el origen del antígeno es un desafío vigente, los fabricantes utilizan tanto antígenos nativos como antígenos recombinantes, los antígenos recombinantes se incorporan en la fase sólida de los inmunoensayos utilizados para determinar anticuerpos anti HLA de forma específica, este tipo de fuente de antígeno suele incluir epítomos lineales o desnaturalizados cuya asociación clínica es cuestionable. Los antígenos desnaturalizados se reportaron por primera vez en sueros obtenidos de varones presuntamente sanos y no aloinmunizados que presentaban anticuerpos HLA. Los anticuerpos se dirigían principalmente a especificidades HLA poco comunes, lo que hace improbable la exposición previa al aloantígeno (Morales-Buenrostro et al., 2008). Posteriormente, se reportó que estos aloanticuerpos inesperados se dirigían a epítomos crípticos en moléculas HLA no expuestas en su configuración nativa (El-Awar N et al., 2008), lo que implica que su significado clínico es incierto pues es poco plausible que un anticuerpo interactúe con epítomos crípticos en condiciones normales.

También es conocido que los antígenos incluidos por los fabricantes en la fase de captura de los inmunoensayos pueden tener un grado de diversidad importante, se sabe que la mayoría de los antígenos están compuestos por diversos epítomos, algunos de estos epítomos serán inmunodominantes con respecto a otros, pero la diversidad de los mecanismos de reconocimiento y procesamiento antigénico de los individuos puede dar lugar a respuestas heterogéneas con similitudes y diferencias entre los distintos individuos. Un estudio sobre los anticuerpos anti ADN doble cadena (dsDNA) ilustra muy bien este principio. Dada su importancia y larga trayectoria, se podría asumir que las pruebas para la determinación de este autoanticuerpo están estandarizadas y ofrecen resultados comparables entre los distintos métodos. Sin embargo, aunque existe un material de referencia estándar (Wo/80 de la OMS), los diferentes métodos de detección del anticuerpo dsDNA arrojan resultados distintos para las mismas muestras. Esta disparidad se atribuye a la diversidad de posibles anticuerpos generados por los distintos individuos contra este antígeno que es muy complejo y puede tener varios epítomos con distinto nivel de asociación clínica (Mummert et al., 2018).

El origen de los anticuerpos secundarios representa una fuente adicional de heterogeneidad para estas mediciones.

Los fabricantes pueden incluir anticuerpos secundarios monoclonales o policlonales, originados en distintos animales, con variantes en el isotipo o a nivel de subclase, principalmente en el caso de la IgG. Capturar y representar los anticuerpos específicos clínicamente relevantes es un gran desafío ante tantas fuentes de variabilidad. Para ilustrar este principio se utilizará la prueba cruzada por citometría de flujo (FCXM) clásica, esta no distingue entre las distintas subclases de IgG. Partiendo de que la utilidad principal de esta prueba es valorar el riesgo inmunológico de rechazo hiperagudo se piensa que muchas pruebas cruzadas positivas por anticuerpos que no fijan el complemento en la vía clásica dan lugar a barreras injustificadas para que determinados receptores accedan a un trasplante. Un estudio demostró que los resultados positivos de la FCXM se debieron principalmente a la presencia de anticuerpos IgG2 o IgG4 no activadores del complemento. Estos resultados se vieron respaldados por la ausencia de anticuerpos específicos del donante (DSA) que se unen a C3d y una prueba de compatibilidad cruzada por citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) negativa (Rao et al., 2022). Actualmente este debate se encuentra vigente y determinados grupos consideran que este escenario representa un riesgo inmunológico moderado o bajo y que es posible proceder con el trasplante en algunos de estos escenarios, a pesar de tener una FCXM positiva (Tambur et al., 2018). Este escenario complejo ilustra como una prueba que se considera el estándar de referencia a nivel global y que tiene validez analítica para la medición de anticuerpos anti HLA tiene una validez y utilidad clínica cuestionable pues no todos los anticuerpos IgG que se detectan en la FCXM clásica correlacionan con rechazo hiperagudo.

Finalmente, más allá del diseño de los inmunoensayos, la misma heterogeneidad y falta de acceso a materiales de referencia dificulta establecer valores de referencia o puntos de decisión clínica claros. En el caso de las pruebas basadas en analitos tipo A se suele contar con múltiples puntos de decisión. Por ejemplo, en condiciones clínicas donde hay deficiencia o exceso de un determinado analito como en el caso de las patologías tiroideas que dan lugar a hipotiroidismo o hipertiroidismo, donde la medición de hormona estimulante de la tiroides (TSH) es esencial para el abordaje de muchos de estos trastornos. La distribución de las mediciones del analito en poblaciones suele ser normal, ubicándose los individuos con condiciones patológicas en los extremos de la curva gaussiana.

Adicionalmente, al ser un analito homogéneo es posible establecer valores de referencia para la definición de puntos de decisión clínica, de manera que los fabricantes que utilicen materiales de referencia como el Who 81/565 obtendrán mediciones de TSH que son comparables entre distintos laboratorios y fabricantes.

En el caso de las determinaciones de nuestro interés suele existir un único punto de decisión, frecuentemente denominado punto de corte que no se puede considerar un punto de decisión clínica por sí mismo, sino un punto de referencia donde se observa reactividad.

La medición realizada por el laboratorio tiene que ser capaz de discriminar a los individuos que presentan la condición de interés de aquellos que no, frecuentemente ambas poblaciones tienen un punto donde ocurre un traslape o superposición de ambas curvas, esto implica que la selección del punto de corte se acompaña de un error que afectara la sensibilidad o la especificidad de la técnica, dependiendo de su uso previsto. Normalmente estos puntos de corte se determinan en base a estudios poblacionales con paneles de muestras que incluyen verdaderos positivos y verdaderos negativos, sin embargo, por más completo que sea el estudio clínico es difícil que represente las “condiciones reales” de aplicación del inmunoensayo y que los eventos observados dentro del mismo sean capaces de predecir todas las desviaciones posibles, especialmente aquellas que se presentan con baja frecuencia.

A pesar de conocer todas estas limitaciones, hoy en día las pruebas para determinación de anticuerpos específicos han mostrado ser seguras y eficaces para el diagnóstico y manejo de varias patologías, incluyendo enfermedades infecciosas, autoinmunes, alérgicas y para efectos de histocompatibilidad. El propósito de esta revisión es visibilizar algunas de estas limitaciones y como se están abordando hoy en día en nuestro contexto para el beneficio de nuestros pacientes.

Desafíos en la determinación de anticuerpos asociados al virus de la inmunodeficiencia humana: cinética compleja y el efecto de la prevalencia de la enfermedad. El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es un Lentivirus de la familia Retroviridae, aislado e identificado por primera vez en el año 1983, el tratamiento oportuno de esta infección permite mejorar el pronóstico de vida de los pacientes, disminuir sus complicaciones y realizar acciones para contener su diseminación en la población (van Heuvel et al., 2022). El diagnóstico del VIH se basa principalmente en la detección de anticuerpos específicos, el antígeno p24 y la detección de ARN viral (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2023).

El primer desafío para el diagnóstico del VIH tiene que ver con la variabilidad propia del virus. El VIH es un virus ARN con una alta tasa de mutación, actualmente se reconoce la existencia de dos tipos virales y en el caso de VIH-1 varios grupos (M, O, N) e incluso subtipos. Toda esa variabilidad propia de estos virus representa un primer desafío para el desarrollo de pruebas de laboratorio, pues los antígenos más relevantes de al menos los grupos M y O tienen que ser incluidos en la fase de captura de todos estos inmunoensayos, adicionalmente es deseable incluir al menos una estrategia para discriminar la infección por VIH-1 de la infección por VIH-2 en el algoritmo planteado por el laboratorio (Branson BM et al., 2018). Como el VIH-1 es el virus epidemiológicamente más relevante para nuestro país, la siguiente parte de la discusión se concentrará en este virus.

El segundo desafío al que se enfrentan estas pruebas es la cinética de aparición de los distintos biomarcadores utilizados para el diagnóstico, la temporalidad de la aplicación de las pruebas en las distintas fases de la historia natural de la enfermedad tiene un impacto importante en el desempeño de estas pruebas.

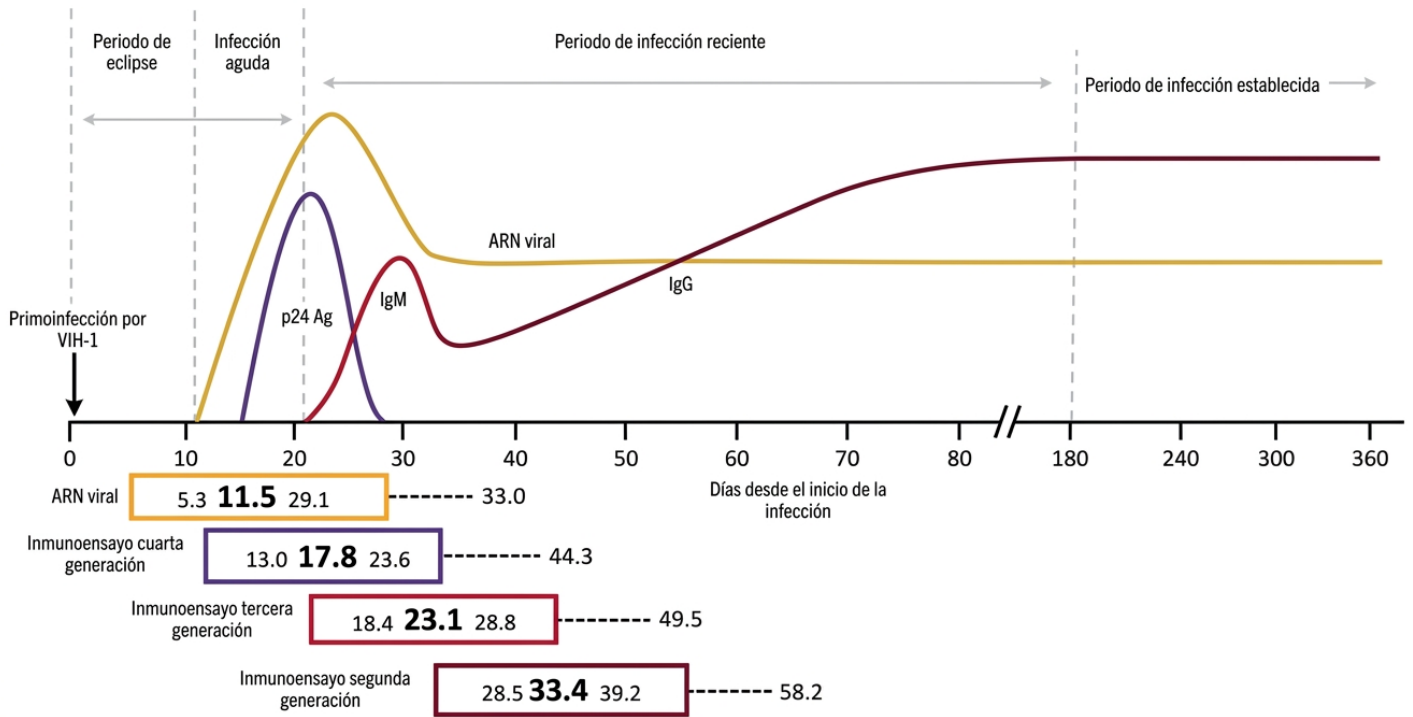


Figura 1. Cinética promedio de la aparición de los distintos biomarcadores empleados para el diagnóstico del VIH-1. Adaptado de: (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2023).

La variabilidad del virus, la cinética y la diversidad de opciones comerciales de inmunoensayos para el diagnóstico de la infección por VIH ilustran el concepto que se pretende exponer en esta revisión: la validez y utilidad clínica del ensayo van a estar en función del momento en el que se aplique la prueba y de la combinación de pruebas que componen el algoritmo del laboratorio, situación que se viene a complicar con el reconocimiento de que la primoinfección por VIH suele generar síntomas muy inespecíficos sin signos o síntomas patognomónicos que permitan su diferenciación respecto a otras patologías similares.

Un desafío final se relaciona con la interpretación de estas pruebas, anteriormente comentamos ampliamente sobre los problemas asociados a la definición de puntos de decisión clínica en los inmunoensayos para la determinación de anticuerpos específicos, el caso del VIH ilustra de manera excepcional este concepto. En general, la presencia de anticuerpos específicos anti VIH confirmados significa exposición e infección establecida por VIH, sin embargo, existen al menos tres excepciones a tener en cuenta. En primer lugar, el caso de los menores de 18 meses nacidos de madres VIH positivas, donde hay que considerar que los anticuerpos maternos se transfieren de forma pasiva al feto por la interfase materno-fetal de modo que el diagnóstico en esta población se debe realizar por métodos directos de forma exclusiva ya que estos anticuerpos pueden persistir durante varios meses generando resultados falsamente positivos (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2023).

En segundo lugar, considerar ciertos escenarios donde es poco probable que se dé una seroconversión completa, por ejemplo, en pacientes con inmunodeficiencias predominantes de anticuerpos, incluyendo la entidad clínica conocida como inmunodeficiencia común variable. La estrategia diagnóstica clásica no beneficia a estos grupos de pacientes, los cuales deben ser candidatos a pruebas de amplificación de ácidos nucleicos (NAT, por sus siglas en inglés) con uso previsto diagnóstico. En tercer lugar, la existencia de reacciones falsamente positivas, situación inherente a cualquier inmunoensayo de esta naturaleza. La mayoría de los inmunoensayos comercialmente disponibles tienen como uso previsto el tamizaje, por lo cual se sabe que son seguros y eficaces para su utilización en esa condición. Varios estudios ilustran que cuando se pretende que el uso previsto de estas pruebas sea predecir una prueba confirmatoria positiva o confirmar una infección su desempeño en el punto de corte de tamizaje es subóptimo y frecuentemente se requiere validar un nuevo punto de corte para obtener un mejor desempeño (Wang et al., 2019; White et al., 2022)

Una de las posibles explicaciones para el tema de los falsos positivos (FP) requiere considerar la prevalencia de la infección en la población general, las pruebas de VIH se realizan en una gran variedad de escenarios por necesidades muy variadas, donde no necesariamente existen comportamientos, eventos, signos o síntomas que orienten hacia una sospecha clínica razonable. Por sus propias limitaciones, en el caso de la determinación de anticuerpos específicos se debe tener en cuenta el efecto de la prevalencia de la condición a estudiar, normalmente las métricas utilizadas para describir este fenómeno son los valores predictivos. El valor predictivo positivo (VPP) se refiere a la probabilidad de que quienes dan positivo en una prueba estén realmente infectados, y el valor predictivo negativo (VPN), la probabilidad de que quienes dan negativo en la prueba no estén realmente infectados. Ambas medidas se expresan a menudo como porcentajes. Lo más importante a considerar es que el VPP y el VPN dependen no solo de la sensibilidad y la especificidad de la prueba, sino también de la prevalencia de la infección en la población estudiada (Banoo et al., 2010). Para poder minimizar el impacto de la prevalencia es necesario que las pruebas se apliquen en escenarios donde exista una alta probabilidad preprueba, sin embargo, para el caso de ciertas determinaciones como VIH este escenario no se cumple, ya que la prueba se suele indicar en múltiples escenarios incluyendo poblaciones de baja prevalencia, como en el caso de los donantes de sangre. Para ilustrar este concepto, considere una prueba con especificidad de 99% y sensibilidad del 98% aplicada a un sujeto que pertenece a un grupo donde la prevalencia estimada es del 10%, el VPP será de 91,5%. Por otro lado, considere la misma prueba aplicada a un sujeto que pertenece a un grupo donde la prevalencia es de 1%, el VPP será de 50%, esto implica que, en este escenario ficticio, es probable que uno de cada dos sujetos inicialmente reactivos en el inmunoensayo sea un FP.

La elección de los inmunoensayos empleados como tamizaje y como confirmación es crucial para garantizar que esta estrategia sea exitosa, para una mejor escogencia de esta estrategia diagnóstica se debe tener en cuenta los distintos periodos de ventana, así como las limitaciones propias de la determinación del antígeno p24 en infecciones donde haya ocurrido seroconversión.

Finalmente, hoy en día hay suficiente evidencia de que es seguro y eficaz incorporar dentro de los algoritmos diagnósticos las pruebas de NAT, en primer lugar para los menores de 18 meses y pacientes con inmunodeficiencias predominantes de anticuerpos y en segundo lugar como herramienta para la resolución de discrepancias entre ensayos de cuarta y tercera generación y finalmente es posible pensar en estas pruebas moleculares como prueba de confirmación, siempre y cuando los costos sean razonables, pues su precio con referencia a la mayoría de los inmunoensayos hace que sea una estrategia costo-prohibitiva para la mayoría de los sistemas de salud (Branson BM et al., 2018) (National Center for HIV/AIDS, 2023). En todo caso el reto que supone la cinética de la aparición de estos biomarcadores puede ser abordado mediante la selección de las herramientas más óptimas para la construcción del algoritmo, mientras el reto de la prevalencia permanece sin ser un factor sencillo de controlar, por lo que es crucial estudiar y conocer el desempeño en condiciones reales de nuestros inmunoensayos con la finalidad de discriminar de mejor manera los presuntos falsos positivos y poder proveer una asesoría más oportuna a los usuarios de los servicios de laboratorio.

Determinación de anticuerpos relacionados a enfermedades autoinmunes sistémicas: avances tecnológicos y desafíos relacionados. La detección de anticuerpos anticelulares (ANA) es de gran utilidad en el diagnóstico y clasificación de enfermedades reumáticas autoinmunes sistémicas (ERAS). Estas enfermedades se caracterizan por la producción de autoanticuerpos contra el tejido conectivo, las articulaciones y los músculos, adicionalmente pueden afectar otros órganos como la piel, los pulmones o los riñones. Los síntomas más tempranos de las ERAS suelen ser inespecíficos y se superponen, lo que dificulta el diagnóstico basado únicamente en las manifestaciones clínicas (Bizzaro, 2007; Goldblatt & O'Neill, 2013).

En general, para estos estudios se considera el ANA como prueba de tamizaje. Actualmente hay dos opciones predominantes para la realización de esta prueba. En primer lugar, los inmunoensayos de fase sólida (ELISA o quimioluminiscencia), en los cuales los fabricantes colocan en la fase de captura una serie de entre 8 a 12 antígenos, considerados los más representativos y prevalentes de las distintas ERAS así como un extracto de células Hep-2, de modo que se realiza un inmunoensayo que finaliza con la generación de una señal en unidades relativas de luz o densidad óptica que se compara contra una señal correspondiente a un punto de corte. Aunque estos métodos son más económicos y simplifican de manera importante el proceso, la información provista es cualitativa dicotómica, lo que permite clasificar las muestras como positivas o negativas sin ningún tipo de información adicional (Meroni & Schur, 2010).

En segundo lugar, se tiene la IFA realizada en el sustrato de células HEp-2 o sus variantes, esta prueba es considerada estándar de oro para el tamizaje de ANA. En esta prueba las células se utilizan como sustrato para la captura de los autoanticuerpos, posteriormente esta unión se puede evidenciar mediante un anticuerpo secundario unido a un fluorocromo posteriormente se puede evaluar la tinción de las mismas mediante microscopía fluorescente y valorar la tinción diferencial en los compartimientos celulares para establecer un patrón de tinción.

La interpretación y el reporte de los resultados de la IFA con células Hep-2 es probablemente el tema más desafiante de esta prueba para los laboratorios, pues esta prueba tiene diversas fuentes de variabilidad tanto a nivel biológico como a nivel técnico.

En primer lugar, este ensayo se considera de alta sensibilidad, lo cual es la principal razón por la cual se considera la metodología de referencia para la detección de ANA. Esta alta sensibilidad se sustenta sobre el hecho de que estas células expresan más de cien antígenos en su conformación nativa y que ningún otro inmunoensayo comercialmente disponible puede igualar esta característica (Damoiseaux et al., 2019). Adicionalmente, la expresión de estos antígenos varía entre los distintos compartimientos celulares y según la fase del ciclo celular en la que se encuentren las células en evaluación, de modo que los patrones observados pueden asociarse a distintos autoanticuerpos y patologías, esta información es un insumo importante para poder realizar la elección más adecuada de la subserología (Bonroy et al., 2023) (Duff et al., 2023).

Por otro lado, la alta sensibilidad del ensayo puede ser contraproducente. En determinados casos, un mal uso de la prueba puede proporcionar resultados difíciles de interpretar en ausencia de un contexto clínico característico de ERAS. En escenarios donde hay sintomatología asociada a ERAS, la probabilidad pretest es alta, mientras que, si la prueba es indicada en un contexto clínico de síntomas inespecíficos, sin hallazgos que se relacionen específicamente con ERAS, la utilidad de la prueba es limitada (Irrure-Ventura & López-Hoyos, 2022).

En los casos donde se encuentran resultados positivos sin clínica asociada a ERAS el hallazgo se suele considerar un FP. Al respecto se conoce que hay variedad de condiciones y enfermedades que pueden causar un ANA positivo, infecciones, cáncer, otras enfermedades autoinmunes, etc. Además, se debe considerar que hay un porcentaje importante de ANA positivo en personas sanas (de 10 a 20%) esto varía de acuerdo con la población, el método y el título de corte de cada estudio (Tan et al., 1997) (Pashnina et al., 2021), para una adecuada interpretación de estos hallazgos se debe tener presente que autoinmunidad y enfermedad autoinmune son dos conceptos distintos, el primero puede ser normal y operar en diversos mecanismos fisiológicos, lo que explica en alguna medida los hallazgos de positividad en bajos títulos en población normal.

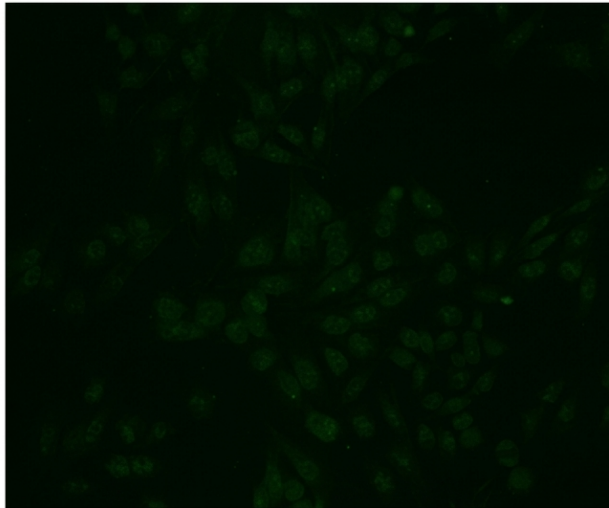
Una variable que tiene mucha incidencia sobre la frecuencia de los presuntos FP es el título de corte empleado por el laboratorio para la realización de la prueba. Es relativamente común que muchos sujetos tengan autoanticuerpos sin que estos sean clínicamente relevantes, el propósito de establecer el punto de corte es encontrar la dilución inicial que permita discriminar de mejor manera los sujetos sanos de aquellos con ERAS, varios estudios han sido consistentes en que entre mayor sea la dilución de corte menor la probabilidad de falsos positivos (Pashnina et al., 2021). De acuerdo a nuestro conocimiento en nuestro país no se ha determinado un título de corte representativo para nuestra población. Los títulos recomendados por los fabricantes son 1:80 y 1:100, la elección de los mismos se deriva de estudios realizados en población norteamericana y europea, curiosamente un estudio realizado en población brasileña revelo que el título de 1:160 tenía mejor desempeño (Mariz et al., 2011), lo que hace pensar que es probable que el desempeño en población latinoamericana sea distinto y valida la necesidad de impulsar estudios locales.

La interpretación de los hallazgos iniciales de un ANA por IFA se complica aún más, si consideramos que un resultado negativo de ANA por IFA no excluye la presencia de autoanticuerpos asociados a ERAS, ciertos antígenos como el SSA o el JO-1 se caracterizan por una expresión baja en las células Hep-2 de modo que es posible que se tenga un tamizaje negativo con subserología positiva en casos de pacientes enfermos, los laboratorios deben tener presente este escenario cuando exista una alta sospecha clínica (Hoffman et al., 2002).

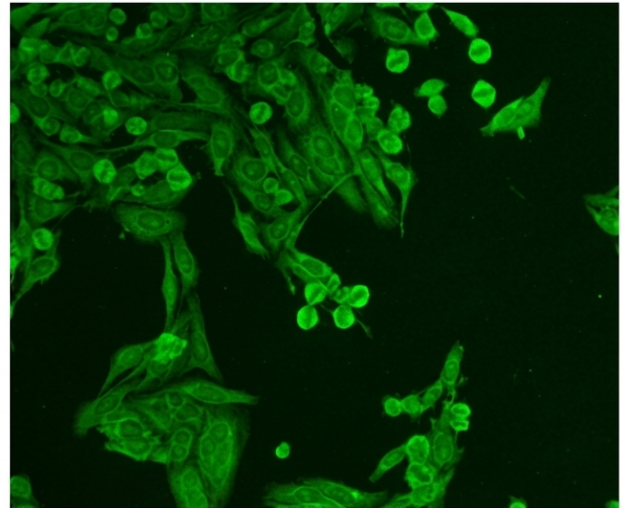
El reporte de los resultados requiere de la capacidad de identificar patrones y nombrarlos adecuadamente, de forma clara y concisa. La tinción diferencial de los compartimientos celulares genera patrones, en la actualidad se reconocen mas de 32 patrones distintos según la última clasificación del ICAP (Andrade et al., 2024).

Los patrones observados en células Hep-2 pueden ser simples o compuestos. En ocasiones puede desarrollarse más de un patrón, en compartimientos celulares distintos, generando patrones múltiples (Cruvinel et al., 2022). Al existir la interacción de dos o más anticuerpos en alto título puede ocurrir un fenómeno conocido como enmascaramiento de patrón. Por eso, aunque la mayoría de sistemas automatizados pueden predecir la dilución al punto final mediante un índice de fluorescencia la mejor practica es realizar titulación a punto final de todas las muestras positivas, con la finalidad de observar de mejor manera los distintos patrones o evidenciar patrones enmascarados (Damoiseaux et al., 2019). Otro problema analítico que se presenta con menor frecuencia es el fenómeno de zona, el mismo puede ocurrir en muestras con autoanticuerpos de alto título que no están suficientemente diluidas, lo que resulta en muestras con una tinción difusa, tenue, sin patrón definido o negativa. Esta situación se resuelve diluyendo la muestra (Ricchiuti et al., 2018).

Para muchos laboratorios puede resultar costo-prohibitivo realizar más de una dilución para el tamizaje inicial, razón por la cual es importante mantener un flujo de comunicación importante entre el laboratorio y el médico tratante y ante escenarios donde el tamizaje haya sido previamente negativo y exista alta sospecha clínica practicar al menos una dilución inicial.



1:100



1:200

Figura 2. Muestra que presenta fenómeno de zona en la dilución de corte y que evidencia un patrón citoplasmático granular fino denso (AC-19) al realizar una dilución inicial de 1:200 (Sustrato células HEP20-10).

Por otro lado, identificar todos los patrones clínicamente relevantes y describirlos adecuadamente; seleccionar adecuadamente la subserología; comprender y ajustar las características técnicas de la prueba para superar las limitaciones inherentes de la técnica requiere de personal altamente calificado tanto en la parte técnica como en la parte clínica. Normalmente este recurso no es el más abundante en los laboratorios clínicos, pues requiere no solo de conocimientos, sino de experiencia y un alto grado de pericia poder alcanzar el nivel experto para la evaluación de estas determinaciones.

Para mejorar la exactitud con la que se reportan los resultados la recomendación más importante es realizar la evaluación de las muestras mediante dos observadores independientes con entrenamiento y experiencia en identificación de patrones, esto es un reto para laboratorios que experimentan altas cargas de trabajo pues es difícil contar con suficiente recurso humano para satisfacer esta recomendación (Vercammen et al., 2023; von Mühlen et al., 2021). Los observadores deben acceder a programas de educación continua e idealmente participar en al menos un programa de evaluación de la competencia al año (Sack et al., 2020; van Hoovels et al., 2021)

En nuestra experiencia ha sido difícil poder incorporar la doble evaluación para todos los casos.

Esta situación se ha tratado de solventar con espacios para la discusión de casos complejos y construcción de consensos en equipo, adicionalmente el acercamiento de los especialistas en inmunología y reumatología al laboratorio para comentar determinados casos ha sido de vital importancia para mejorar nuestro desempeño en el reporte de los casos más importantes. De esta forma se ha logrado construir una experiencia de aprendizaje colectivo para nuestro grupo de trabajo, que actualmente se compone de una líder usuario y varios usuarios competentes.

En todo caso el consenso internacional en patrones de ANA (ICAP, por sus siglas en inglés) mantiene un sitio Web donde es posible acceder a la nomenclatura de los distintos patrones, el sitio provee adicionalmente fotografías provenientes de las distintas soluciones comerciales, así como una descripción de los aspectos clave, sugerencias para la subserología, así como información clínica relevante. Esta herramienta es ideal tanto para el laboratorio como para la clínica(Andrade et al., 2024).

Finalmente, las prácticas de control de calidad son un punto a considerar en estos ensayos. En nuestra experiencia hemos notado que muchos fabricantes proveen un material de control de calidad negativo y uno positivo, ambos se caracterizan por no ser conmutables con referencia al suero como matriz de análisis. Adicionalmente el control positivo suele ser un único patrón en un título muy elevado. Es difícil que esta práctica de control de calidad pueda predecir pequeñas desviaciones en el desempeño de todo el proceso, por lo cual la recomendación es incorporar controles de segunda parte (controles basados en pacientes) bien caracterizados, con matrices conmutables e idealmente tener controles positivos de varios patrones con títulos a punto final más cercanos al punto de corte (Sack et al., 2020). Una opción alternativa es la adquisición de controles de tercera parte, el problema de estos controles es que existe poca disponibilidad de los mismos a nivel comercial o son muy costosos. El control externo también es vital para asegurar la calidad de este proceso, los laboratorios también deben participar en rondas de control de calidad externo o comparaciones interlaboratorias, lo ideal es encontrar programas con 4 o más rondas anuales donde se provean diversas muestras(Sack et al., 2020).(Kavanaugh et al., 2000). Algunos de estos programas tienen como valor agregado incluir casos clínicos con las muestras, de modo que también constituyen una herramienta para la evaluación de la competencia del personal.

Por todo lo antes mencionado si bien el ANA por IFA es el biomarcador por excelencia en el estudio inicial de las patologías reumáticas sistémicas, hay algunos aspectos que deben considerarse al implementarse en los laboratorios. La prueba de ANA por IFA se debe acompañar de varias herramientas de software y hardware que faciliten la realización, el análisis, la interpretación y el almacenamiento de toda la información, por lo cual suele considerarse una prueba de alto costo. Se requiere de personal altamente capacitado tanto en la parte técnica como en la parte clínica, con capacidad de mantener una comunicación fluida con el médico tratante para maximizar las bondades de esta prueba como tamizaje y realizar una correcta elección de la subserología. Finalmente se requiere de mecanismos muy robustos para el control y aseguramiento de la calidad, incluyendo idealmente mecanismos de evaluación de la competencia para los analistas.

Determinación de aloanticuerpos en el contexto de los análisis de Histocompatibilidad: complejidad técnica y dificultades en su interpretación.

La Histocompatibilidad e Inmunogenética clínica (H&I) surge como resultado del polimorfismo entre los alelos que codifican por las proteínas del antígeno leucocitario humano (HLA), particularmente en los locus A, B y C de clase I y DRB, DQ y DP de clase II (Zachary & Leffell, 2013). La función principal de este sistema es facilitar la presentación de una variedad de péptidos derivados de antígenos propios y extraños para la activación de los linfocitos T. Este sistema es un éxito evolutivo para nuestra especie ya que garantiza la protección de la especie contra patógenos emergentes y reemergentes. Por otro lado, constituye la principal barrera para los trasplantes, ya que el mismo polimorfismo que garantiza una gran diversidad de moléculas del HLA en la población genera péptidos que difieren significativamente entre los individuos de la misma especie convirtiéndose en aloantígenos para aquellos individuos que no las toleran. El reconocimiento de estos péptidos se conoce como aloreconocimiento. Lo anterior se traduce en una respuesta inmunológica celular y humoral que conlleva a la pérdida del órgano trasplantado mediante un mecanismo inmunológico conocido como rechazo (Cozzi et al., 2017).

De acuerdo con el tiempo de aparición, el rechazo de órgano se clasifica en tres tipos principales:

- Rechazo hiperagudo: Ocurre en horas a días y está mediado por anticuerpos preformados, generalmente contra ABO, anti-HLA y otras moléculas antigénicas menos polimórficas, como MIC-A, debido a contactos previos (transfusiones, embarazos, trasplantes anteriores. La activación del complemento produce daño endotelial e induce trombosis vascular (Moreau et al., 2013; Thomas et al., 2015).
- Rechazo agudo: Se desarrolla tras la sensibilización y presentación de antígenos HLA del donador, con infiltración linfocitaria y daño tisular mediado por mecanismos como citotoxicidad de células CD8+, opsonización, activación del complemento y repuesta de células NK. La detección y monitoreo de aloanticuerpos donante específico (DSA) es esencial para ajustar el tratamiento y evitar la pérdida del injerto (Loupy & Lefaucheur, 2018; Valenzuela & Reed, 2017).
- Rechazo crónico: Ocurre meses o años después del trasplante, como resultado de la activación persistente del sistema inmune. La fibrosis vascular y el daño progresivo limitan las opciones terapéuticas y resultan en deterioro funcional del órgano (Hurskainen et al., 2021; Tissot et al., 2019).

Aunque la mayoría del conocimiento de los mecanismos de rechazo esta referido a los trasplantes de órgano sólido, en el caso del trasplante de células progenitoras hematopoyéticas existe también una respuesta y rechazo de las ramas celulares y humorales del receptor hacia el injerto que puede ocasionar su pérdida. Además, en este tipo particular de trasplante existe el riesgo de enfermedad injerto contra hospedero (EIVH), donde los linfocitos T donadores atacan tejidos del receptor, afectando principalmente piel y mucosas e impactando la calidad de vida.

La compatibilidad HLA sigue siendo fundamental para minimizar rechazo y el riesgo de EIVH (Malard et al., 2023; Masouridi-Levrat et al., 2016). El resto de esta revisión se centrará en la revisión de estas pruebas en el contexto del trasplante de órgano sólido.

En la actualidad la prevención del rechazo hiperagudo depende de la identificación precisa de anticuerpos anti-HLA mediante pruebas de laboratorio. En general hay dos formas de detectarlos, la primera es por medio de los ensayos de fase sólida y la segunda por medio de ensayos basados en células.

De las pruebas fase sólida para la detección de anticuerpos anti-HLA, las técnicas basadas en partículas recubiertas con antígenos HLA son las más utilizadas actualmente. Estas pruebas son multiparamétricas, en general se basan en lotes de esferas de poliestireno recubiertas por combinaciones de antígenos del HLA o antígenos singulares del HLA (dependiendo del formato). Estas esferas se caracterizan por estar teñidas con una combinación única de un colorante fluorescente, de modo que pueden ser discriminadas por esta característica a nivel de un sitio de interrogación. Durante la prueba las esferas se combinan con el suero del paciente y se incuban por un periodo definido de tiempo, tras varios ciclos de lavado se agrega un anticuerpo secundario anti IgG humana que se incuba durante otro periodo, tras la repetición del ciclo de lavado las esferas se resuspenden en un tampón de fosfatos para realizar una detección individualizada en cada una de las esferas que componen al lote específico de prueba por un sistema de fluorimetría muy similar a un citómetro de flujo (Liwski et al., 2017). El análisis de la reactividad individual de cada esfera es realizado con ayuda de un software especializado, pues los parámetros analizar varían de entre decenas hasta centenas de reacciones compuestas (Bestard et al., 2022; Pratschke et al., 2016).

Estas pruebas tienen como uso principal hacer del trasplante un proceso más seguro y más eficaz, en general se utilizan en combinación con la tipificación del HLA para establecer el grado de riesgo inmunológico asociado a un trasplante y determinar de forma objetiva si el potencial receptor se beneficiaría del proceso.

A pesar de sus bondades, la estandarización de las pruebas de fase sólida no ha sido posible debido a la gran diversidad de antígenos y anticuerpos que se han caracterizado y se continúan caracterizando en este campo de estudio. En el área de H&I el concepto de antígeno se descompone en epítopos, epletos y tripletas, con variaciones en su conformación, exposición y expresión. De todas las variantes del ensayo la más utilizada es la configuración de un antígeno único por esfera (SAB, por sus siglas en inglés), debido a que permite identificar la especificidad del anticuerpo anti-HLA, en este caso los antígenos son recombinantes lo que en ocasiones genera que los antígenos del HLA de las esferas no estén en su conformación nativa y por el contrario den lugar epítopos lineales discontinuos o epítopos que en condiciones biológicas no están expuestos (epítopos crípticos), esto tiene como consecuencia que con alguna frecuencia se detecten anticuerpos clínicamente irrelevantes que pueden generar confusión a la hora de estratificar el riesgo inmunológico asociado al trasplante.

Otra situación asociada a estos ensayos tiene que ver con la necesidad de cuantificar los anticuerpos, pues se sabe que los anticuerpos clínicamente relevantes se caracterizan por altos títulos. En el caso de los anticuerpos anti-HLA la cuantificación no es posible. A pesar de que en el SAB cada esfera individual se acompaña de una intensidad media de fluorescencia (IMF), este valor no es trazable a un material de referencia que permita asociar la señal en IMF con una concentración específica de cada anticuerpo detectado, adicionalmente en estos inmunoensayos hay variables adicionales como la subclase o avidéz de los anticuerpos que pueden afectar de manera importante el principio biológico de unión antígeno-anticuerpo, de modo que no solo la concentración de los anticuerpos es el determinante de la intensidad de la señal. Como no es posible cuantificar, se han hecho varios estudios basados en titulación donde se ha logrado establecer diluciones de suero que poseen una mejor relación con la avidéz del anticuerpo y su posible relevancia clínica. Adicionalmente, en la última década se ha desarrollado técnicas que permiten realizar una modificación de la prueba y ver si los anticuerpos pueden fijar complemento, el cual es el mecanismo principal del rechazo hiperagudo y uno de los principales, mas no el único, del rechazo agudo (Carey et al., 2016; Tambur et al., 2020; Tambur & Schinstock, 2022).

Como en todos los casos que hemos comentado anteriormente, se deben establecer niveles de decisión clínica. En la determinación de anticuerpos anti HLA no existe un consenso único y definitivo sobre la forma de determinar cuáles anticuerpos están realmente presentes en un determinado paciente ni su significado clínico, hay muchas aproximaciones y muchas interrogantes al respecto.

Como principio general, cada centro debe determinar sus puntos de corte para la identificación de anticuerpos anti HLA. En principio nuestro centro utiliza una aproximación en la cual se combina la información de dos pruebas del mismo fabricante (PRA y SAB) para identificar patrones de reactividad, luego se hace un análisis por grupos de reactividad cruzada y epítomos utilizando herramientas informáticas y finalmente se accede al historial clínico del paciente donde se busca información relevante asociada a potenciales eventos sensibilizantes, de este modo se busca realizar una asignación representativa del paciente que sea segura y eficaz para su atención. La figura 3 muestra un ejemplo de la aplicación de estos principios.

Una afirmación que todavía está en debate consiste en que la evaluación de la capacidad de unión de los anticuerpos anti HLA del receptor a las células del donante es un mejor predictor del desenlace clínico del trasplante con referencia a la unión de los anticuerpos a los antígenos contenidos en las esferas de poliestireno. Por eso hoy en día la información de las pruebas de fase sólida se suele combinar con la provista con los ensayos basados en células para tratar de establecer un riesgo inmunológico de forma más precisa.

El concepto de prueba cruzada con células y su implicación en el trasplante renal, fue acuñado desde 1969 por el Dr. Ramon Patel y el Dr. Paul Terasaki, en donde una reacción positiva promovía un fallo en la función del injerto en la mayoría de los casos estudiados (Patel & Terasaki, 1969). El principio básico de la prueba cruzada es el contacto del suero del receptor (con potenciales anticuerpos anti-HLA) con los linfocitos T y B del donante, los cuales, simulan al tejido en la expresión de HLA Clase I y Clase II (Gebel & Bray, 2010). A pesar de su principio, las pruebas presentan particularidades y retos que han requerido de la implementación de varias mejoras a las metodologías originales.

La primera prueba cruzada en desarrollarse fue la citotoxicidad dependiente de complemento (CDC), cuya positividad está relacionada con la capacidad de los anticuerpos donante específico de fijar el complemento en la vía clásica y por ende, el rechazo hiperagudo. Esta prueba presenta una tasa significativamente alta de falsos negativos (baja sensibilidad), por lo que carece de la capacidad necesaria de detectar todos los anticuerpos específicos contra el donante. La incorporación de la antiglobulina humana permitió superar parcialmente las limitaciones asociadas a la sensibilidad que en su mayoría eran atribuibles al fenómeno CYNAP (por sus siglas en inglés *Cytotoxic-Negative, Absorption-Positive*), ya que en escenarios de bajo título de anticuerpos la distancia entre los mismos impedía el entrecruzamiento y por lo tanto no se daba la activación del complemento (Arrunátegui et al., 2022; Tait et al., 2013).

Por su lado, la prueba cruzada por citometría de flujo (FXCM, por sus siglas en inglés) fue introducida en 1983, mejoró sustantivamente la sensibilidad y especificidad para la detección de anticuerpos anti HLA, convirtiéndose actualmente en el estándar de referencia para muchos laboratorios. El principio básico de unión del anticuerpo a los antígenos del HLA contenidos en los linfocitos B y linfocitos T. Para construir las ventanas lógicas se utilizan las diferencias de tamaño, complejidad celular, así como varios anticuerpos monoclonales marcados con fluorocromos incluyendo CD19, CD3, CD45. Finalmente, luego de varios ciclos de incubación entre las células del donante y el suero del receptor la unión de los anticuerpos anti-HLA de isotipo IgG a la superficie de la célula se revela mediante un F(ab)₂ monoclonal contra IgG humana (Arrunátegui et al., 2022).

A pesar de su alta sensibilidad y especificidad, la FXCM es una prueba celular susceptible a uniones inespecíficas de las inmunoglobulinas a los receptores FcγR, a la unión de autoanticuerpos y la interferencia por anticuerpos terapéuticos como el rituximab (anti-CD20), daclizumab (anti-CD25), alemtuzumab (anti-CD52), antiglobulina anti-timocito y la inmunoglobulina intravenosa, la cual en el contexto del trasplante en receptores sensibilizados, es comúnmente utilizado (Franz et al., 2021). Estas variables pueden ocasionar hallazgos incongruentes con el estudio de anticuerpos por fase sólida, lo cual puede generar atrasos en la realización de trasplante o un descarte en un potencial donante.

Finalmente, una variante de prueba cruzada muy utilizada en la actualidad es la prueba cruzada virtual (VXCM). Muchos grupos consideran que esta es la prueba más sensible y específica para la detección de anticuerpos anti-HLA donante específico (Wade et al., 2022). Esta prueba utiliza un estudio de anticuerpos anti HLA realizado por fase sólida y contrasta sus hallazgos con la tipificación molecular del HLA del donante. Toda ausencia de anticuerpos anti-HLA arrojará un resultado negativo en la prueba cruzada virtual, indicando la ausencia de anticuerpos y anticuerpos donante específico. Esto predice en prácticamente un 100% de los casos a una prueba cruzada por citometría de flujo negativa, con excepciones de los interferentes de la citometría de flujo mencionados anteriormente. Por otro lado, la presencia de anticuerpos en el receptor contra el donante (anticuerpos donantes específico) no siempre correlaciona con un resultado positivo en la citometría de flujo, siendo el título de anticuerpos la variable más importante que se conoce en estos casos (Gebel & Bray, 2010; Wade et al., 2022).

En nuestro contexto, la prueba cruzada virtual ha permitido la definición de antígenos prohibitivos para la distribución de órganos. Este antígeno se ha definido como el grupo alélico al cual se dirige un anticuerpo de OMF mayor a 6000 MFI encontrado en al menos dos estudios de anticuerpos separados con una temporalidad de 6 meses. Esto hace que nuestro sistema de procuración y distribución de órganos a partir de donante en muerte encefálica sea más rápido y eficaz en la asignación de los mismos, favoreciendo a los pacientes y generando un impacto positivo para el sistema de salud.

Potenciales mecanismos de mejora continua para la determinación de anticuerpos específicos. Durante el desarrollo de este trabajo hemos expuesto una serie de características propias de los anticuerpos específicos como analitos en distintas áreas del laboratorio de inmunología. El objetivo principal era mostrar como un grupo tan diverso de inmunoensayos tienen desafíos comunes, asociados a la naturaleza de los anticuerpos específicos como analitos. Para mejorar la exactitud de la información provista por los laboratorios hay varios mecanismos, durante el trabajo exploramos algunos de ellos y a continuación resumiremos cuatro aspectos clave. En primer lugar, es importante redefinir las prácticas de control y aseguramiento de la calidad para este tipo de inmunoensayos. De acuerdo con nuestro conocimiento en nuestro país muchos laboratorios siguen las reglas propias de los analitos tipo A para diseñar sus prácticas de control interno de la calidad interno enfocadas en analitos tipo B.

Revisión Inmunología

La información presentada en este trabajo pretende motivar a rediseñar nuestros mecanismos de control de calidad incluyendo los elementos asociados a su análisis estadístico, frecuencia según el riesgo específico de cada determinación, inclusión de controles de punto de corte y preferiblemente controles basados en matrices conmutables. Adicionalmente, durante nuestra revisión no encontramos experiencias nacionales en la verificación de métodos siguiendo estándares como la EP-12-A3 de CLSI y solamente tenemos conocimiento de un programa nacional de control de calidad externo o esquema de comparación interlaboratorial para analitos de este tipo, lo que implica que la mayoría de los laboratorios deben recurrir a programas importados desde otros países, frecuentemente más costosos y menos representativos de lo que se puede esperar en nuestra población.

En segundo lugar, hay que reconocer que la inmunología y la serología son campos muy dinámicos en cuanto a la generación y renovación del conocimiento, de modo que los requerimientos de capacitación y formación continua son muy altos y la frecuencia mínima de actualización debería ser anual. Adicionalmente, no parece existir una fuente importante de mecanismos nacionales para que los laboratorios puedan contar con insumos para realizar la evaluación de la competencia anual de sus funcionarios. Desarrollar y gestionar el conocimiento local es un desafío común para la academia, la clínica y la industria. La creación de espacios de intercambio de conocimiento como el Immunology Journal Club impulsado por la Universidad de Costa Rica y la futura Asociación Costarricense de Inmunología pueden ser un mecanismo para proveer soluciones a estas necesidades.

Finalmente, los espacios de discusión y generación de conocimiento permiten la identificación de brechas de conocimiento y potenciales áreas de **investigación**, esto es de vital importancia para que pueda surgir la colaboración entre la academia y la práctica asistencial. Muchos desafíos tienen que ver no solo con el conocimiento local, sino con el conocimiento global de los asuntos, por lo cual este campo puede ser atractivo tanto para la academia como para la industria.

Por ejemplo, en el área de identificación de patrones de ANA la inteligencia artificial (IA) podría generar modelos de aprendizaje automatizados, tal como lo propusieron Molina y Herrera en una revisión anterior del tema de aplicaciones de la IA (Molina & Herrera, 2024) con los cientos o miles de fotografías, clasificaciones por expertos y datos clínicos asociados que están almacenados en los ordenadores de los principales laboratorios a nivel nacional es posible crear modelos con suficiente potencia para poder identificar más cantidad de patrones que las soluciones comerciales básicas (que en promedio identifican 8 patrones) y crear una herramienta que permita automatizar el segundo nivel de validación a nivel automatizado. En el área de la serología de enfermedades infecciosas y en el área de H&I hay muchos vacíos de conocimiento que también se podrían abordar de forma similar.

El insumo final de estas colaboraciones puede ser la generación de consensos nacionales, procedimientos estandarizados y recomendaciones prácticas basadas en evidencia científica para la optimización de nuestras prácticas. La inmunología clínica en nuestro país ha experimentado un crecimiento en los últimos años, esto es un desafío para todo el ecosistema, sin embargo, conforme podamos identificar con precisión estos desafíos y estas limitaciones estaremos más cerca de solucionar los problemas que los originan y como consecuencia generar prácticas más seguras y eficaces para la atención de nuestros pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

Abdullah, Din, M., Waris, A., Khan, M., Ali, S., Muhammad, R., & Salman, M. (2023). The contemporary immunoassays for HIV diagnosis: a concise overview. *Asian Biomedicine: Research, Reviews and News*, 17(1), 3. <https://doi.org/10.2478/ABM-2023-0038>

Alexander, T. S. (2016). Human Immunodeficiency Virus Diagnostic Testing: 30 Years of Evolution. *Clinical and Vaccine Immunology*, 23(4), 249–253. <https://doi.org/10.1128/CVI.00053-16>

Andrade, L. E. C., Klotz, W., Herold, M., Musset, L., Damoiseaux, J., Infantino, M., Carballo, O. G., Choi, M., von Mühlen, C. A., Garcia-De La Torre, I., Satoh, M., Francescantonio, P. L. C., Mimori, T., Conrad, K., de Melo Cruvinel, W., Chan, E. K. L., & Fritzler, M. J. (2024). Reflecting on a decade of the international consensus on ANA patterns (ICAP): Accomplishments and challenges from the perspective of the 7th ICAP workshop. *Autoimmunity Reviews*, 23(9), 103608. <https://doi.org/10.1016/J.AUTREV.2024.103608>

Arrunátegui, A. M., Ramon, D. S., Viola, L. M., Olsen, L. G., & Jaramillo, A. (2022). Aspectos técnicos y clínicos de la prueba cruzada de histocompatibilidad en el trasplante de órganos sólidos. *Biomédica*, 42(2), 391. <https://doi.org/10.7705/BIOMEDICA.6255>

Banoo, S., Bell, D., Bossuyt, P., Herring, A., Mabey, D., Poole, F., Smith, P. G., Sriram, N., Wongsrichanalai, C., Linke, R., O'Brien, R., Perkins, M., Cunningham, J., Matsoso, P., Nathanson, C. M., Olliaro, P., Peeling, R. W., & Ramsay, A. (2010). Evaluation of diagnostic tests for infectious diseases: General principles. *Nature Reviews Microbiology*, 8(12), S17–S29. <https://doi.org/10.1038/NRMICRO1523;KWRD>

Bestard, O., Thauinat, O., Bellini, M. I., Böhmig, G. A., Budde, K., Claas, F., Couzi, L., Furian, L., Heemann, U., Mamode, N., Oberbauer, R., Pengel, L., Schneeberger, S., & Naesens, M. (2022). Alloimmune Risk Stratification for Kidney Transplant Rejection. *Transplant International*, 35, 10138. <https://doi.org/10.3389/TI.2022.10138/TEXT>

Bizzaro, N. (2007). Autoantibodies as predictors of disease: The clinical and experimental evidence. *Autoimmunity Reviews*, 6(6), 325–333. <https://doi.org/10.1016/J.AUTREV.2007.01.006>

Bonroy, C., Vercammen, M., Fierz, W., Andrade, L. E. C., Van Hoovels, L., Infantino, M., Fritzler, M. J., Bogdanos, D., Kozmar, A., Nespola, B., Broeders, S., Patel, D., Herold, M., Zheng, B., Chan, E. Y. T., Uibo, R., Haapala, A. M., Musset, L., Sack, U., ... Bossuyt, X. (2023). Detection of antinuclear antibodies: Recommendations from EFLM, EASI and ICAP. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 61(7), 1167–1198. <https://doi.org/10.1515/cclm-2023-0209>

Branson, B. M. (2010). The future of HIV testing. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 55(SUPPL. 2). <https://doi.org/10.1097/QAI.0B013E3181FBCA44>

Branson BM, Owen SM, Wesolowski LG, Bennett B, Werner BG, Wroblewski KE, & Pentella MA. (2018). *Laboratory Testing for the Diagnosis of HIV Infection: Updated Recommendations*. <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/50872>

Carey, B. S., Boswijk, K., Mabrok, M., Rowe, P. A., Connor, A., Saif, I., & Poles, A. (2016). A reliable method for avoiding false negative results with Luminex single antigen beads; evidence of the prozone effect. *Transplant Immunology*, 37, 23–27. <https://doi.org/10.1016/j.trim.2016.04.002>

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2023). Criteria for laboratory testing and diagnosis of Human Immunodeficiency Virus infection. *CLSI Guideline M53*. www.clsi.org.

Cozzi, E., Colpo, A., & De Silvestro, G. (2017). The mechanisms of rejection in solid organ transplantation. *Transfusion and Apheresis Science*, 56(4), 498–505. <https://doi.org/10.1016/j.transci.2017.07.005>

Cruvinel, W. de M., Andrade, L. E. C., Dellavance, A., Ximenes, A. C., Bichara, C. D. A., Manguiera, C. L. P., Bonfá, E., de Almeida Brito, F., Mariz, H. A., dos Anjos, L. M. E., Pasoto, S. G., Valim, V., dos Santos, W. F. S., Gomes, C. M., Neves, R. A., & Francescantonio, P. L. C. (2022). VI Brazilian consensus guidelines for detection of anti-cell autoantibodies on HEp-2 cells. *Advances in Rheumatology*, 62(1). <https://doi.org/10.1186/s42358-022-00266-z>

- Damoiseaux, J., Andrade, L. E. C., Carballo, O. G., Conrad, K., Francescantonio, P. L. C., Fritzler, M. J., Garcia De La Torre, I., Herold, M., Klotz, W., Cruvinel, W. D. M., Mimori, T., Von Muhlen, C., Satoh, M., & Chan, E. K. (2019). Clinical relevance of HEp-2 indirect immunofluorescent patterns: The International Consensus on ANA patterns (ICAP) perspective. *In Annals of the Rheumatic Diseases* (Vol. 78, Issue 7, pp. 879–889). BMJ Publishing Group. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2018-214436>
- Delaney, K. P., Hanson, D. L., Masciotra, S., Ethridge, S. F., Wesolowski, L., & Owen, S. M. (2017). Time Until Emergence of HIV Test Reactivity Following Infection With HIV-1: Implications for Interpreting Test Results and Retesting After Exposure. *Clinical Infectious Diseases*, 64(1), 53–59. <https://doi.org/10.1093/CID/CIW666>
- Dimech, W. (2021). *The Standardization and Control of Serology and Nucleic Acid Testing for Infectious Diseases*. <https://doi.org/10.1128/CMR>
- Dimech, W. J., Vincini, G. A., Plebani, M., Lippi, G., Nichols, J. H., & Sonntag, O. (2023). Time to address quality control processes applied to antibody testing for infectious diseases. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 61(2), 205–212. <https://doi.org/10.1515/ccclm-2022-0986>
- Dimech, W., Vincini, G., & Karakaltsas, M. (2015). Determination of quality control limits for serological infectious disease testing using historical data. *In Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* (Vol. 53, Issue 2, pp. 329–336). Walter de Gruyter GmbH. <https://doi.org/10.1515/ccclm-2014-0546>
- Duff, D., Vyas, N., Enderle, J., & Rajendran, R. (2023). Evaluation of Antinuclear Antibody and Subserology Reflex Testing for the Diagnosis of Systemic Autoimmune Rheumatic Disorders in an Academic Teaching Hospital. *Laboratory Medicine*, 54(5), 489–494. <https://doi.org/10.1093/LABMED/LMAC157>
- El-Awar N, Terasaki PI, Nguyen A, Sasaki N, Morales-Buenrostro LE, Saji H, & et al. (2008). *Epitopes of HLA antibodies found in sera of normal healthy males and cord blood - PubMed* (1st ed., Vol. 1). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19708457/>
- Fiebig, E. W., Heldebrant, C. M., Smith, R. I. F., Conrad, A. J., & et al. (2005). Intermittent Low-Level Viremia in Very Early Primary HIV-1 Infection. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 133–137. https://journals.lww.com/jaids/abstract/2005/06010/intermittent_low_level_viremia_in_very_early.2.aspx
- Franz, B. J., Petraroia, R., Faust, C. D., Crawford, T., Smalls, S., Vongsavanh, C., Gibson, K., & Schmitz, J. L. (2021). Abrogating biologics interference in flow cytometric crossmatching. *Human Immunology*, 82(8), 574–580. <https://doi.org/10.1016/J.HUMIMM.2021.01.016>
- Gebel, H. M., & Bray, R. A. (2010). The evolution and clinical impact of human leukocyte antigen technology. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, 19(6), 598–602. <https://doi.org/10.1097/MNH.0B013E32833DFC3F>
- Goldblatt, F., & O'Neill, S. G. (2013). Clinical aspects of autoimmune rheumatic diseases. *The Lancet*, 382(9894), 797–808. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61499-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61499-3)
- Hoffman, I. E. A., Peene, I., Veys, E. M., & De Keyser, F. (2002). Detection of Specific Antinuclear Reactivities in Patients with Negative Anti-nuclear Antibody Immunofluorescence Screening Tests. *Clinical Chemistry*, 48(12), 2171–2176. <https://doi.org/10.1093/CLINCHEM/48.12.2171>
- Hurskainen, M., Ainasoja, O., & Lemström, K. B. (2021). Failing Heart Transplants and Rejection—A Cellular Perspective. *Journal of Cardiovascular Development and Disease* 2021, Vol. 8, Page 180, 8(12), 180. <https://doi.org/10.3390/JCDD8120180>
- Irure-Ventura, J., & López-Hoyos, M. (2022). The Past, Present, and Future in Antinuclear Antibodies (ANA). *In Diagnostics* (Vol. 12, Issue 3). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/diagnostics12030647>
- Kavanaugh, A., Tomar, R., Reveille, J., Solomon, D. H., & Homburger, H. A. (2000). Special Article Guidelines for Clinical Use of the Antinuclear Antibody Test and Tests for Specific Autoantibodies to Nuclear Antigens. *In Antinuclear Antibody and Autoantibody Tests-Kavanaugh et al* (Vol. 124).
- Liwski, R. S., Greenshields, A. L., Murphey, C., Bray, R. A., & Gebel, H. M. (2017). It's about time: The development and validation of a rapid optimized single antigen bead (ROB) assay protocol for LABScreen. *Human Immunology*, 78(7–8), 489–499. <https://doi.org/10.1016/J.HUMIMM.2017.05.001>
- Liwski, R. S., Tafulo, S., Carroll, R., Lan, J. H., & Greenshields, A. L. (2022). Cutting through the weeds: Evaluation of a novel adsorption with crossmatch cells and elution protocol to sharpen HLA antibody identification by the single antigen bead assay. *Frontiers in Genetics*, 13. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.1059650>
- Loupy, A., & Lefaucheur, C. (2018). Antibody-Mediated Rejection of Solid-Organ Allografts. *New England Journal of Medicine*, 379(12), 1150–1160. <https://doi.org/10.1056/NEJMRA1802677>
- Malard, F., Holler, E., Sandmaier, B. M., Huang, H., & Mohty, M. (2023). Acute graft-versus-host disease. *Nature Reviews Disease Primers*, 9(1), 1–18. <https://doi.org/10.1038/S41572-023-00438-1;SUBJMETA>
- Mariz, H. A., Sato, E. I., Barbosa, S. H., Rodrigues, S. H., Dellavance, A., & Andrade, L. E. C. (2011). Pattern on the antinuclear antibody-HEp-2 test is a critical parameter for discriminating antinuclear antibody-positive healthy individuals and patients with autoimmune rheumatic diseases. *Arthritis and Rheumatism*, 63(1), 191–200. <https://doi.org/10.1002/art.30084>

- Masouridi-Levrat, S., Simonetta, F., & Chalandon, Y. (2016). Immunological basis of bone marrow failure after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Frontiers in Immunology*, 7(SEP), 217147. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2016.00362/BIBTEX>
- McCaughan, J., Xu, Q., & Tinckam, K. (2019). Detecting donor-specific antibodies: the importance of sorting the wheat from the chaff. *Hepatology and Nutrition*, 8(1), 372–352. <https://doi.org/10.21037/HBSN.2019.01.01>
- Meroni, P. L., & Schur, P. H. (2010). ANA screening: An old test with new recommendations. In *Annals of the Rheumatic Diseases* (Vol. 69, Issue 8, pp. 1420–1422). <https://doi.org/10.1136/ard.2009.127100>
- Molina, J. A., & Herrera, M. L. (2024). Inteligencia Artificial en Ciencias de Laboratorio: Conceptos, aplicaciones y escenario actual de Costa Rica. *Revista Del Colegio de Microbiólogos y Químicos Clínicos de Costa Rica*, 29(3), 1–13.
- Morales-Buenrostro, L. E., Terasaki, P. I., Marino-Vázquez, L. A., Lee, J. H., El-Awar, N., & Alberú, J. (2008). “Natural” human leukocyte antigen antibodies found in nonalloimmunized healthy males. *Transplantation*, 86(8), 1111–1115. <https://doi.org/10.1097/TP.0B013E318186D87B>
- Moreau, A., Varey, E., Anegón, I., & Cuturi, M. C. (2013). Effector Mechanisms of Rejection. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 3(11), a015461. <https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A015461>
- Mummert, E., Fritzler, M. J., Sjöwall, C., Bentow, C., & Mahler, M. (2018). The clinical utility of anti-double-stranded DNA antibodies and the challenges of their determination. *Journal of Immunological Methods*, 459, 11–19. <https://doi.org/10.1016/J.JIM.2018.05.014>
- National Center for HIV/AIDS, V. H. and T. P. (U. S.). D. of H. P. (2023). *Technical update for HIV nucleic acid tests approved for diagnostic purposes*. <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/129018>
- Panteghini, M. (2007). Mini-Review Traceability, Reference Systems and Result Comparability. In *Clin Biochem Rev* (Vol. 28). Pashnina, I. A., Krivolapova, I. M., Fedotkina, T. V., Ryabkova, V. A., Chereshneva, M. V., Churilov, L. P., & Chereshnev, V. A. (2021). Antinuclear autoantibodies in health: Autoimmunity is not a synonym of autoimmune disease. In *Antibodies* (Vol. 10, Issue 1, pp. 1–26). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/antib10010009>
- Patel, R., & Terasaki, P. I. (1969). Significance of the Positive Crossmatch Test in Kidney Transplantation. *New England Journal of Medicine*, 280(14), 735–739. <https://doi.org/10.1056/NEJM196904032801401>
- Pratschke, J., Dragun, D., Hauser, I. A., Horn, S., Mueller, T. F., Schemmer, P., & Thaiss, F. (2016). Immunological risk assessment: The key to individualized immunosuppression after kidney transplantation. *Transplantation Reviews*, 30(2), 77–84. <https://doi.org/10.1016/J.TRRE.2016.02.002>
- Rao, P. N., Deo, D. D., Gaur, A., Baran, D. A., Zucker, M. J., Kapoor, S., Marchioni, M. A., Almendral, J., Kandula, P., & Patel, A. (2022). A new flow cytometry assay identifies recipient IgG subtype antibodies binding donor cells: increasing donor availability for highly sensitised patients. *Clinical & Translational Immunology*, 11(9), e1415. <https://doi.org/10.1002/CTI2.1415>
- Ricchiuti, V., Adams, J., Hardy, D. J., Katayev, A., & Fleming, J. K. (2018). Automated processing and evaluation of anti-nuclear antibody indirect immunofluorescence testing. *Frontiers in Immunology*, 9(MAY). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00927>
- Sack, U., Bossuyt, X., Andreeva, H., Antal-Szalmás, P., Bizzaro, N., Bogdanos, D., Borzova, E., Conrad, K., Dragon-Durey, M. A., Eriksson, C., Fischer, K., Haapala, A. M., Heijnen, I., Herold, M., Klotz, W., Kozmar, A., Tesija Kuna, A., López Hoyos, M., Malkov, V. A., ... Damoiseaux, J. (2020). Quality and best practice in medical laboratories: Specific requests for autoimmunity testing. *Autoimmunity Highlights*, 11(1). <https://doi.org/10.1186/s13317-020-00134-0>
- Salinas, M. (2023). Laboratory Medicine: From just testing to saving lives. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 61(10), 1677–1678. <https://doi.org/10.1515/CCLM-2023-0379/MACHINEREA-DABLECITATION/RIS>
- Tait, B. D. (2016). Detection of HLA antibodies in organ transplant recipients - triumphs and challenges of the solid phase bead assay. *Frontiers in Immunology*, 7(DEC), 226201. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2016.00570/BIBTEX>
- Tait, B. D., Süsal, C., Gebel, H. M., Nickerson, P. W., Zachary, A. A., Claas, F. H. J., Reed, E. F., Bray, R. A., Campbell, P., Chapman, J. R., Coates, P. T., Colvin, R. B., Cozzi, E., Doxiadis, I. I. N., Fuggle, S. V., Gill, J., Glotz, D., Lachmann, N., Mohanakumar, T., ... Opelz, G. (2013). Consensus guidelines on the testing and clinical management issues associated with HLA and Non-HLA antibodies in transplantation. *Transplantation*, 95(1), 19–47. <https://doi.org/10.1097/TP.0B013E31827A19CC>
- Tambur, A. R., Campbell, P., Chong, A. S., Feng, S., Ford, M. L., Gebel, H., Gill, R. G., Kelsoe, G., Kosmoliaptis, V., Mannon, R. B., Mengel, M., Reed, E. F., Valenzuela, N. M., Wiebe, C., Dijke, I. E., Sullivan, H. C., & Nickerson, P. (2020). Sensitization in transplantation: Assessment of risk (STAR) 2019 Working Group Meeting Report. *American Journal of Transplantation*, 20(10), 2652–2668. <https://doi.org/10.1111/ajt.15937>
- Tambur, A. R., Campbell, P., Claas, F. H., Feng, S., Gebel, H. M., Jackson, A. M., Mannon, R. B., Reed, E. F., Tinckam, K., Askar, M., Chandraker, A., Chang, P. P., Colvin, M., Demetris, A. J., Diamond, J. M., Dipchand, A. I., Fairchild, R. L., Ford, M. L., Friedewald, J., ... Nickerson, P. (2018). Sensitization in Transplantation: Assessment of Risk (STAR) 2017 Working Group Meeting Report. *American Journal of Transplantation*, 18(7), 1604–1614. <https://doi.org/10.1111/ajt.14752>
- Tambur, A. R., & Schinstock, C. (2022). Clinical utility of serial serum dilutions for HLA antibody interpretation. *HLA*, 100(5), 457–468. <https://doi.org/10.1111/TAN.14781>

Tan, E. M., Feltkamp, T. E. W., Smolen, J. S., Butcher, B., Dawkins, R., Fritzler, M. J., Gordon, T., Hardin, J. A., Kalden, J. R., Lahita, R. G., Maini, R. N., McDougal, J. S., Rothfield, N. F., Smeenk, R. J., Takasaki, Y., Wiik, A., Wilson, M. R., & Koziol, J. A. (1997). Range of antinuclear antibodies in “healthy” individuals. *Arthritis and Rheumatism*, 40(9), 1601–1611. <https://doi.org/10.1002/ART.1780400909>

Thomas, K. A., Valenzuela, N. M., & Reed, E. F. (2015). The perfect storm: HLA antibodies, complement, FcγRs, and endothelium in transplant rejection. *Trends in Molecular Medicine*, 21(5), 319–329. <https://doi.org/10.1016/J.MOLMED.2015.02.004>

Tissot, A., Danger, R., Claustre, J., Magnan, A., & Brouard, S. (2019). Early identification of chronic lung allograft dysfunction: The need of biomarkers. *Frontiers in Immunology*, 10(JULY), 462150. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2019.01681/BIBTEX>

Valenzuela, N. M., & Reed, E. F. (2017). Antibody-mediated rejection across solid organ transplants: manifestations, mechanisms, and therapies. *The Journal of Clinical Investigation*, 127(7), 2492–2504. <https://doi.org/10.1172/JCI90597>

van Heuvel, Y., Schatz, S., Rosengarten, J. F., & Stitz, J. (2022). Infectious RNA: Human Immunodeficiency Virus (HIV) Biology, Therapeutic Intervention, and the Quest for a Vaccine. *Toxins* 2022, Vol. 14, Page 138, 14(2), 138. <https://doi.org/10.3390/TOXINS14020138>

van Hoovels, L., Bossuyt, X., Manfredi, M., Grossi, V., Benucci, M., van Den Bremt, S., de Baere, H., Franceschi, D., Tosi, E., Meoni, M., Bizzaro, N., & Infantino, M. (2021). Integrating quality assurance in autoimmunity: The changing face of the automated ANA IIF test. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 59(7), 1247–1255. <https://doi.org/10.1515/cclm-2020-1669>

Vercammen, M., Bonroy, C., Broeders, S., Chan, E. K. L., Bizzaro, N., Bogdanos, D. P., Andrade, L., Coucke, W., De Melo Cruvinel, W., Kozmar, A., Kuhi, L., Lutteri, L., Rego De Sousa, M. J., Schouwens, S., Van Hoovels, L., & Bossuyt, X. (2023). Analytical aspects of the antinuclear antibody test by HEp-2 indirect immunofluorescence: EFLM report on an international survey. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 61(7), 1199–1208. <https://doi.org/10.1515/cclm-2023-0210>

Vesper, H. W., Myers, G. L., & Greg Miller, W. (2016). Current practices and challenges in the standardization and harmonization of clinical laboratory tests. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 104, 907S–912S. <https://doi.org/10.3945/AJCN.115.110387>

von Mühlen, C. A., Garcia-De La Torre, I., Infantino, M., Damoiseaux, J., Andrade, L. E. C., Carballo, O. G., Conrad, K., Francescantonio, P. L. C., Fritzler, M. J., Herold, M., Klotz, W., de Melo Cruvinel, W., Mimori, T., Satoh, M., Musset, L., & Chan, E. K. L. (2021). How to report the antinuclear antibodies (anti-cell antibodies) test on HEp-2 cells: guidelines from the ICAP initiative. *Immunologic Research*, 69(6), 594–608. <https://doi.org/10.1007/S12026-021-09233-0>

Wade, J., Roback, J. D., Krummey, S. M., Gebel, H. M., Bray, R. A., & Sullivan, H. C. (2022). Implementing virtual crossmatch based diagnostic management teams in human leukocyte antigen laboratories and transplant programs. *Transplant Immunology*, 73, 101629. <https://doi.org/10.1016/J.TRIM.2022.101629>

Wang, L., Wang, J. Y., Tian, X. D., Ruan, J. xiong, Yu, Y., & Yan, F. (2019). Sample-to-cutoff ratios using Architect HIV Ag/Ab Combo: The influence with the results of supplemental tests and optimal cutoff value to predict HIV infection. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 33(5), e22866. <https://doi.org/10.1002/JCLA.22866>

White, D. A. E., Anderson, E. S., Basham, K., Ng, V. L., Russell, C., Lyons, M. S., Powers-Fletcher, M. V., Giordano, T. P., Muldrew, K. L., Siatecka, H., Hsieh, Y. H., Dashler, G., Carroll, K. C., Mostafa, H. H., & Rothman, R. E. (2022). Clinical Utility of the Signal-to-Cutoff Ratio of Reactive HIV Antigen/Antibody Screening Tests in Guiding Emergency Physician Management. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 89(3), 332–339. <https://doi.org/10.1097/QAI.0000000000002873>

Wrenn, S. M., Marroquin, C. E., Hain, D. S., Harm, S. K., Pineda, J. A., Hammond, P. B., Shah, D. H., Hillyard, S. E., & Fung, M. K. (2018). Improving the performance of virtual crossmatch results by correlating with nationally-performed physical crossmatches: Obtaining additional value from proficiency testing activities. *Human Immunology*, 79(8), 602–609. <https://doi.org/10.1016/J.HUMIMM.2018.05.009>

Zachary, A. A., & Leffell, M. S. (2013). *Transplantation immunology: methods and protocols* (Humana Press: Springer, Ed.; 2nd ed.). https://catalog.nlm.nih.gov/discovery/fulldisplay/alma9916149013406676/01NLM_INST:01NLM_INST

Zerrouki, A., Ouadghiri, S., Benseffaj, N., Razine, R., & Essakalli, M. (2016). High background in Luminex® assay for HLA antibody screening: Interest of Adsorb Out™. *Transplant Immunology*, 36, 20–24. <https://doi.org/10.1016/j.trim.2016.03.001>