

## Caracterización de los anticuerpos anti-HLA en posibles receptores cubanos de trasplante cardiaco

Characterization of anti-HLA antibodies in Cuban possible receptors of heart transplant

Lelyem Marcell Rodríguez<sup>1\*</sup> <https://orcid.org/0000-0001-7085-9185>

Luz M Morera Barrios<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-8604-421X>

Catalino R Ustariz García<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0001-7095-5660>

Mahelys Ramírez Hernández<sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0003-4485-166X>

Manuel Nafeh Abi-rezk<sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0003-3982-1554>

Arturo Chang Monteagudo<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-0843-372X>

<sup>1</sup>Instituto de Hematología e Inmunología. La Habana, Cuba.

<sup>2</sup>Hospital Clínico Quirúrgico “Hermanos Amejeiras”. La Habana, Cuba.

\*Autor para la correspondencia: [rchematologia@infomed.sld.cu](mailto:rchematologia@infomed.sld.cu)

### RESUMEN

**Introducción:** En la supervivencia del corazón trasplantado son de importancia el empleo de los anticuerpos contra el sistema principal de histocompatibilidad (anticuerpos anti-HLA). Hace seis años se introdujo en Cuba el porcentaje de anticuerpos anti-HLA frente a panel (PRA) por método de ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA) como parte de las pruebas de compatibilidad pretrasplante de los receptores de trasplante cardiaco.

**Objetivo:** Caracterizar los anticuerpos anti-HLA en pacientes receptores cubanos de trasplante cardiaco.

**Métodos:** Entre septiembre de 2013 y abril de 2017 se les realizó el PRA por ELISA a 38 muestras de pacientes recibidas en el laboratorio de histocompatibilidad del Instituto de Hematología e Inmunología. Se utilizó la comparación de proporciones para el análisis estadístico.

**Resultados:** El 47,4 % de los pacientes estudiados presentó anticuerpos anti-HLA, fueron los más frecuentes los de clase I. La proporción de pacientes con PRA del 0 % fue mayor

en PRA clase II que en I ( $p= 0,0027$ ). Mientras que fue mayor la proporción de pacientes con PRA clase I entre el 20 y el 75 % ( $p= 0,0046$ ). El 77,8 % de los pacientes tuvo un PRA clase I mayor al 10 % y en el PRA clase II alcanzó el 80 %.

**Conclusiones:** El porcentaje de anticuerpos anti-HLA frente a panel por método de ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima permitió una mejor caracterización de los anticuerpos anti-HLA, lo que contribuyó a mejorar la compatibilidad en este tipo de paciente.

**Palabras clave:** anticuerpos anti-HLA; trasplante cardiaco; método de ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA); anticuerpos frente a panel (PRA).

## ABSTRACT

**Introduction:** In survival after heart transplantation, the use of antibodies against the main histocompatibility system (anti-HLA antibodies) is important. Six years ago, the percentage of anti-HLA antibodies against panel (PRA) by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method was introduced in Cuba as part of the pre-transplant compatibility tests of heart transplant recipients.

**Objective:** To characterize anti-HLA antibodies in Cuban heart transplant recipients.

**Methods:** Between September 2013 and April 2017, PRA by ELISA was performed on 38 patient samples received in the histocompatibility laboratory of the Institute of Hematology and Immunology. Comparison of proportions was used for statistical analysis.

**Results:** 47.4% of the study patients presented anti-HLA antibodies; those in class were the most frequent. The proportion of patients with PRA of 0% was higher in PRA class II than in class I ( $p=0.0027$ ). The proportion of patients with PRA class I was greater, accounting for 20-75% ( $p=0.0046$ ). 77.8% of the patients had a class I PRA greater than 10%, while in class II PRA it reached 80%.

**Conclusions:** The percentage of anti-HLA antibodies versus a panel of enzyme linked immunosorbent assay method allowed better characterization of anti-HLA antibodies, which contributed to improving compatibility in this type of patient.

**Keywords:** anti-HLA antibodies; heart transplantation; enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) method; antibodies versus panel (PRA).

Recibido: 29/08/19

Aceptado: 30/01/20

## Introducción

La insuficiencia cardiaca es una afección crónica en la cual el corazón ya no puede bombear sangre en oxígeno al resto del cuerpo de forma eficiente. La prevalencia de pacientes con esta afección alcanza el 2 % de la población de países europeos y en Estados Unidos. Además, son reportados 550 000 nuevos casos por año.<sup>(1)</sup>

La mortalidad a los 5 años de los pacientes con insuficiencia cardiaca crónica sintomática alcanza el 50 %<sup>(1,2)</sup> y puede ser tan alta como el 80 % durante el primer año al entrar a la fase terminal.<sup>(2)</sup>

Se desconocen con exactitud las cifras de incidencia y prevalencia de la insuficiencia cardiaca en nuestro país.<sup>(3)</sup>

Su prevalencia en Cuba se estima en alrededor del 1,7 %, similar a lo referido en estudios foráneos y que dicha prevalencia aumenta con la edad (7-18 % en mayores de 70 años).<sup>(4)</sup>

En Cuba, las enfermedades cardiacas constituyen la primera causa de mortalidad y la insuficiencia cardiaca es la tercera causa de mortalidad dentro de estas enfermedades.<sup>(5)</sup>

A pesar de los avances farmacológicos y en aditamentos tecnológicos para el tratamiento de la insuficiencia cardiaca crónica, la morbilidad y mortalidad a largo plazo permanecen altas en los pacientes que la padecen y usualmente progresan hacia la insuficiencia cardiaca terminal.<sup>(1,2)</sup>

El trasplante cardiaco ha evolucionado desde décadas pasadas para convertirse en la mejor terapia disponible en la insuficiencia cardiaca avanzada con alta probabilidad de muerte,<sup>(2,6)</sup> prolonga significativamente la sobrevida de los pacientes, que puede llegar hasta 13 años,<sup>(2)</sup> y mejora su calidad de vida.<sup>(1)</sup>

La supervivencia del órgano trasplantado depende de muchos factores y entre ellos cobran especial importancia los anticuerpos contra el sistema principal de histocompatibilidad (HLA) o anticuerpos anti-HLA, que pueden ser de clase I y clase II.

La alosensibilización pretrasplante de los receptores de trasplante cardiaco con estos anticuerpos disminuye el número de posibles candidatos a donante, prolonga el tiempo en espera del trasplante, además aumenta la mortalidad y morbilidad postrasplante.<sup>(2,6,7,8)</sup>

Esto se debe a que pueden causar rechazo hiperagudo, aumentan el riesgo de rechazo agudo celular y mediado por anticuerpos (AMR, del inglés, *antibody mediated rejection*), y predisponen al desarrollo de una vasculopatía del injerto cardiaco (CAV, del inglés, *cardiovascular allograft vasculopathy*), que constituye la causa mayor de falla cardiaca.<sup>(2,6,7,8)</sup>

La AMR provoca falla cardíaca y es responsable del 35 al 40 % de las muertes en los 5 primeros años posteriores al trasplante y su variante crónica, tanto sintomática como no sintomática, frecuentemente asociada a CAV, es responsable del 50 al 60 % de la mortalidad.<sup>(9)</sup>

Entre las pruebas de compatibilidad inmunológica donante-receptor previas a este tipo de trasplante se realiza, además de la compatibilidad de grupo sanguíneo ABO, el PRA (anticuerpos anti-HLA frente a panel), que permite determinar el porcentaje y especificidad de los anticuerpos anti-HLA si existieran.

Cuando el paciente presenta un PRA  $\geq 10$  % se considera sensibilizado con anticuerpos anti-HLA,<sup>(1,8,10)</sup> y cuando el porcentaje del PRA rebasa el 10 %, se recomienda realizar una prueba cruzada pretrasplante entre el posible donante y el receptor.<sup>(1,8,10)</sup> En caso de ser positiva indicaría que el receptor presenta anticuerpos específicos de donante (DSA, del inglés, *donor specific antibodies*) e invalida el uso de ese posible donante para el receptor en estudio.

La introducción de los ensayos de fase sólida: ELISA (ensayo inmunoenzimático, del inglés, *enzyme-linked immunosorbent assay*), Luminex y citometría de flujo, en sustitución a su predecesor la microlinfotoxicidad dependiente de complemento (CDC), mejoró la sensibilidad de la detección, así como la caracterización de la especificidad de los anticuerpos anti-HLA, y permitió mejorar la compatibilidad donante-receptor.<sup>(2,6,11)</sup>

Se ha descrito una relación inversamente proporcional entre los niveles de PRA y la supervivencia del injerto cardíaco.<sup>(6,12)</sup> Los pacientes trasplantados con una prueba de cruzada positiva tienen un mayor riesgo de fallo cardíaco temprano postrasplante y una reducción drástica de la supervivencia del injerto durante el primer año, comparado a aquellos trasplantados con la prueba negativa.<sup>(6)</sup> Esto valida la importancia de la determinación pretrasplante de ambos estudios.

Desde hace 6 años a los pacientes receptores de trasplante cardíaco en Cuba se les realiza la detección de anticuerpos anti-HLA mediante dos métodos como parte de la evaluación inmunológica pretrasplante, el PRA por ELISA y la prueba cruzada por citometría de flujo. Esta última se realiza cuando se tienen potenciales donantes y la sensibilización con anticuerpos anti-HLA de los receptores sobrepasa el 40 %.

El objetivo del presente trabajo es caracterizar los anticuerpos anti-HLA en pacientes receptores cubanos de trasplante cardíaco. Este es el primer análisis que se realiza de los resultados hallados desde la introducción del PRA por ELISA como estudio pretrasplante en estos receptores.

## Métodos

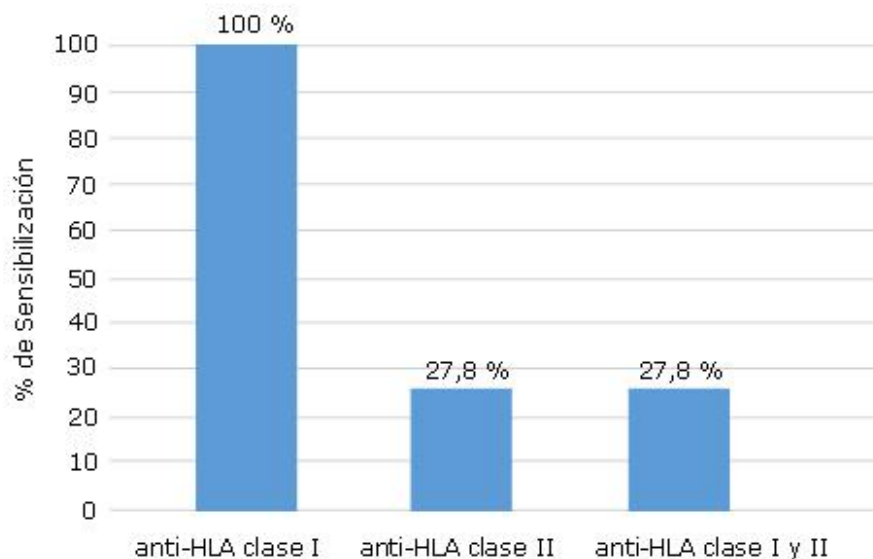
Se estudiaron 38 muestras de pacientes con criterio de receptor de trasplante cardiaco recibidas en el laboratorio de Histocompatibilidad del Instituto de Hematología e Inmunología, entre septiembre de 2013 a abril de 2017.

Previo consentimiento informado, la recolección de las muestras se realizó en el Hospital Clínico Quirúrgico Hermanos Ameijeiras. Se extrajeron 10 mL de sangre periférica en tubos secos, que se conservaron entre 4 y 8 °C hasta ser centrifugadas a 1500 g durante 15 min a temperatura ambiente (22-24 °C). El suero se distribuyó en alícuotas de 2 mL que se conservaron a -20°C hasta su envío al laboratorio de Histocompatibilidad. La transportación se hizo en recipientes adecuados para garantizar la calidad de las muestras. Los datos demográficos e inmunológicos de los pacientes se recogieron en planillas de Estudio Inicial. Se realizó primeramente la detección de anticuerpos IgG anti-HLA, se utilizaron los estuches comerciales: LIFECODES QuikScreen y LIFECODES B-Screen, para la determinación de anticuerpos anti-HLA clase I y II, respectivamente. A aquellos pacientes cuyas muestras resultaron positivas se procedió a la identificación de porcentaje de PRA y especificidades mediante los estuches comerciales LIFECODES Quik-ID Class I para anticuerpos anti-HLA clase I y LIFECODES Quik-ID Class II para anti-HLA clase II, se siguieron las instrucciones del fabricante.<sup>(13)</sup> Estas técnicas se realizaron de forma automatizada mediante un analizador tipo ChemWell® (AwarenessTechnology, Inc). Se utilizó para el análisis estadístico la prueba de comparación de proporciones con un nivel de confianza del 95 % en el programa Epidat versión 3.1.

## Resultados

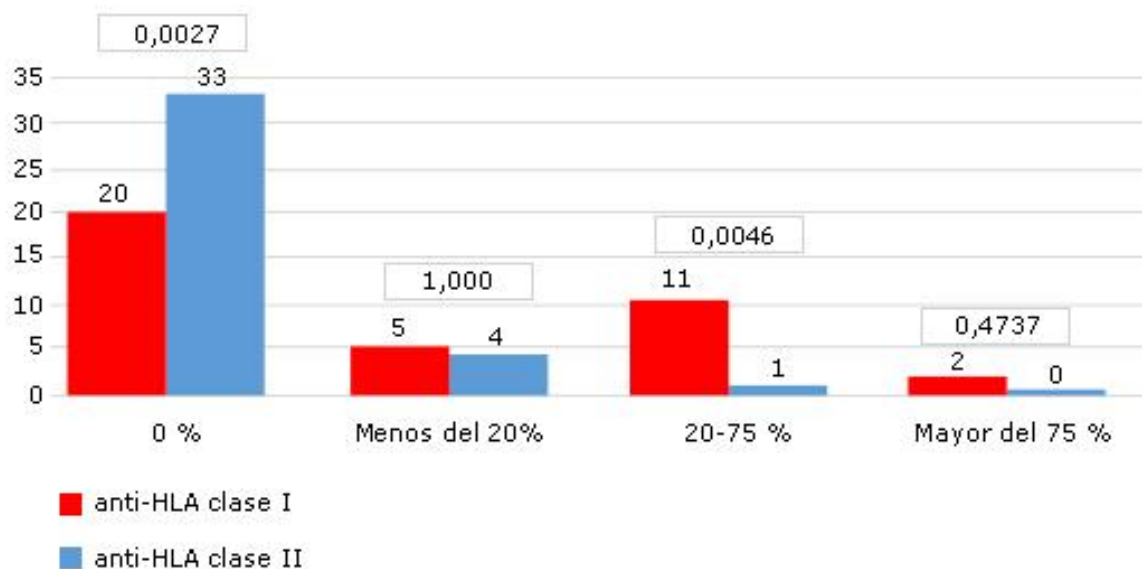
En los pacientes estudiados predominó el grupo etario de 40-45 años edad, el sexo masculino (89,5 %) y la miocardiopatía dilatada, que fue el diagnóstico más frecuente de insuficiencia cardiaca.

El 47,4 % (18 pacientes) presentaron anticuerpos anti-HLA de alguna clase, fueron más frecuentes los anticuerpos anti-HLA clase I (presentes en el 100 % de los pacientes positivos). Solo 5 pacientes (27,8 %) tuvieron anticuerpos de clase II, que se aproximó en todos los casos con la sensibilización con anticuerpos de clase I o doble sensibilización (Fig. 1).



**Fig.1** - Sensibilización según clase de anticuerpos anti-HLA en receptores cubanos de trasplante cardiaco.

La proporción de pacientes con PRA del 0 % fue mayor en clase II que en I (p: 0,0027) y por otro lado fue mayor la proporción de pacientes de clase I con PRA entre el 20 y el 75 % (p: 0,0046). No se encontraron diferencias significativas en los otros rangos de porcentaje (Fig. 2).



**Fig. 2** - Número de pacientes según porcentaje del PRA de anticuerpos anti-HLA.

De los pacientes con anticuerpos anti-HLA clase I positivos, 6 (el 33,3 %), tuvieron un PRA mayor del 40 %, mientras que todos los PRA clase II estuvieron por debajo del 40 % (Fig. 3).

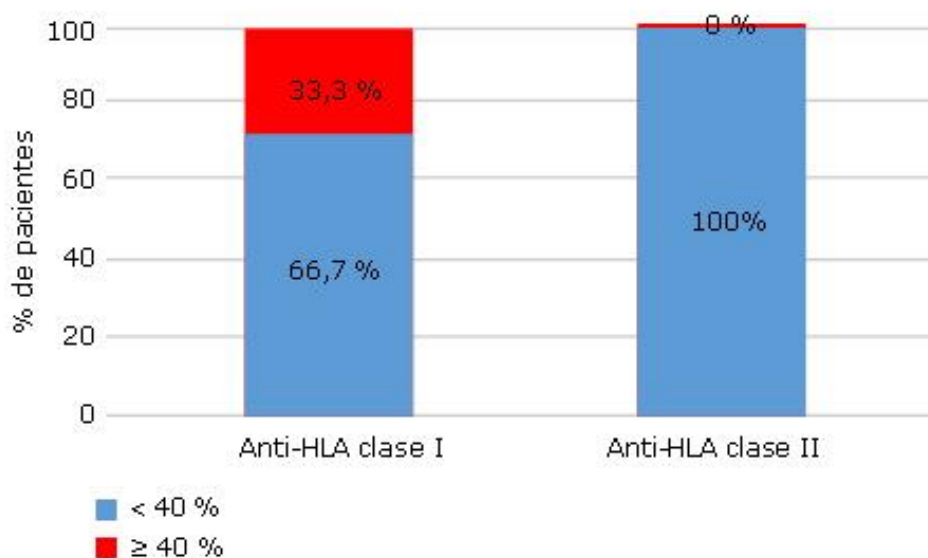


Fig. 3 - Porcentaje de pacientes según PRA mayor o menor del 40 %.

El 77,8 % de los pacientes tuvo un PRA clase I mayor al 10 %, mientras que en el PRA clase II alcanzó el 80 % (Fig. 4).

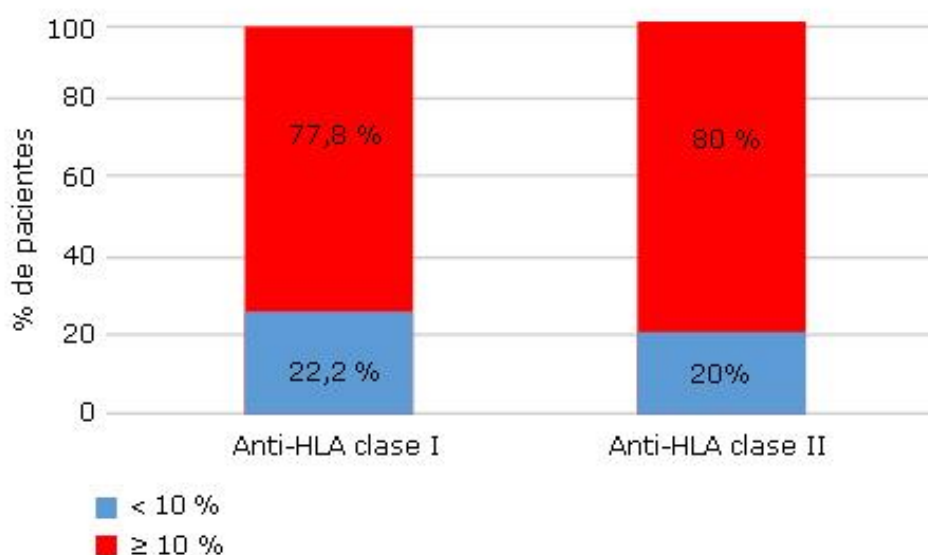


Fig. 4 - Porcentaje de pacientes según PRA mayor o menor del 10 %.

Las especificidades más frecuentes de los anticuerpos anti-HLA clase I fueron contra los genes B\*67 y B\*59 (83,3 % de los pacientes), los anticuerpos anti-Cw\*14, A\*80, B\*15 (B63 y B76); B\*81 y Cw\*18 estuvieron en el segundo lugar con el 72,2 % y en tercer lugar estuvieron los anti-A\*66, B\*50 y B\*52 presentes en el 55,5 % de los pacientes positivos. Las especificidades de los anticuerpos anti-HLA clase II no pudieron ser determinadas debido a las limitaciones del ELISA como método.

## Discusión

Alrededor de la mitad de los pacientes estudiados presentaron anticuerpos anti-HLA. Esto concuerda con lo informado a nivel mundial acerca del aumento durante la última década del número de candidatos a trasplante cardiaco sensibilizados con estos anticuerpos.<sup>(2,6,8,12)</sup>

Lo anteriormente planteado se debe a que estos pacientes, además de tener los factores de riesgo para la sensibilización con estos anticuerpos comunes a otros receptores de órganos sólidos como: las transfusiones sanguíneas y de hemoderivados, trasplantes y embarazos previos, tienen dos factores que solo se ven en este tipo de trasplante: los injertos humanos (homoinjertos) realizados durante cirugías reconstructivas cardiacas y los sistemas de asistencia ventricular (VAD, del inglés *ventricular assist devices*).<sup>(2,6,8,12)</sup>

Los pacientes con VAD que reciben transfusiones de plaquetas perioperatorias o eritrocitarias no depletadas de leucocitos, tienen más posibilidades de desarrollar anticuerpos anti-HLA de clase I sin impactar en los anticuerpos anti-HLA de clase II, a no ser que el paciente sea HLA-DR3, pues se ha comprobado que guarda relación con la aparición de anti-HLA clase II en pacientes con VAD.<sup>(6)</sup>

En nuestro país no se realiza la implantación de VAD, y aunque los homoinjertos cardiacos se realizaron en la década del 80 y el 90 no se llevan a cabo en la actualidad, por lo que las transfusiones sanguíneas son la principal causa de sensibilización con anticuerpos anti-HLA pretrasplante cardiaco, según informan otros autores.<sup>(6)</sup>

Los anticuerpos anti-HLA clase I pretrasplante están directamente relacionados con la inmunopatología de la CAV<sup>(6,7)</sup> y estos estuvieron presentes en todos los pacientes estudiados que presentaron anticuerpos lo que constituye un elemento a considerar.

Los niveles de sensibilización en estos pacientes sugieren que se deben establecer estrategias de seguimiento serológico pretrasplante de estos anticuerpos.



Estudios recientes mostraron que el PRA > 25 %<sup>(7)</sup> y el PRA > 10 %<sup>(7,12)</sup> están asociados con pobre supervivencia después del trasplante cardiaco. Otro estudio de un grupo de trasplante pediátrico evidenció una supervivencia al cabo de un 1 año del 73 % de los receptores de trasplante cardiaco con un PRA  $\geq$  50 %, mientras que aquellos con un PRA < 10 % la supervivencia fue del 90 %.<sup>(14)</sup>

Un PRA elevado está descrito como uno de los factores de riesgo que aumenta la probabilidad de rechazo en los pacientes con trasplante cardiaco.<sup>(1,7)</sup> El PRA  $\geq$  10 % está asociado con una incidencia incrementada de rechazo celular agudo, vasculopatía del injerto cardiaco y mortalidad,<sup>(8)</sup> además de más posibilidades de tener DSA.<sup>(12)</sup>

En nuestro país se sigue tomado el PRA  $\geq$  40 % como criterio para realizar la prueba cruzada pretrasplante, aunque muchos autores recomiendan realizarla cuando este alcance el 10 %.<sup>(1,7,12)</sup> A pesar de que no fueron muchos los pacientes que tenían más del 40 % en clase I y no existió ninguno en clase II, si fueron varios los que presentaron un PRA  $\geq$  10 %, por lo que quizás se debería valorar el criterio de porcentaje hasta ahora utilizado para realizar una prueba cruzada previa.

En la actualidad se maneja que el porcentaje calculado de anticuerpos anti-HLA o PRA calculado (cPRA) es de mayor importancia que el PRA definido por ensayo de fase sólida, pues el porcentaje de este último se define según la representación que tengan los antígenos HLA en la técnica y no refleja la frecuencia de estos antígenos en la población. Este último no arroja la posibilidad real de encontrar un donante compatible, que si lo contempla el cPRA.<sup>(11,15)</sup>

Si el candidato a trasplante presenta un cPRA, según frecuencia poblacional de antígenos HLA inaceptables (que son contra los que el receptor presenta anticuerpos específicos), mayor del 50 %, se recomienda la desensibilización o disminución del porcentaje de anticuerpos antes de trasplantar.<sup>(2,7)</sup>

Aunque en nuestro país ya contamos con el cPRA,<sup>(15)</sup> en el presente estudio se utilizó el PRA definido por la técnica de ELISA. Esto se debió a que por limitación de la prueba cuando el porcentaje del PRA se encuentra por debajo del 30 % no se puede realizar una caracterización adecuada de la especificidad de los anticuerpos anti-HLA; si se hubiera utilizado el cPRA no se hubieran podido introducir los anticuerpos anti-HLA clase II, lo que arrojaría un resultado negativo para estos anticuerpos y por lo tanto no real.

Los genes B\*67 y B\*59 pertenecen al mismo grupo GREG o familias de antígenos relacionados estructuralmente, por lo tanto, con reactividad cruzada entre ellos. Lo anterior explicaría que fueran reconocidos por el mismo anticuerpo, al ser los anticuerpos contra

antígenos públicos los más frecuentes y que son los que reconocen a más de un antígeno de un mismo grupo CREG.<sup>(16)</sup>

En otro estudio realizado en nuestro país, pero con otro tipo de trasplante, se han descrito los anticuerpos anti-HLA contra el locus B, así como el anti-Cw14, A\*80, A\*66 como frecuentes,<sup>(17)</sup> al igual que en la presente investigación.

Una de las limitaciones del PRA por ELISA es que no permite conocer la cuantificación o título de los anticuerpos anti-HLA; esto es de vital importancia a la hora de seleccionar entre todas las especificidades de los anticuerpos aquellas a considerar en primer lugar.<sup>(2)</sup> El conocer las especificidades de los anticuerpos anti-HLA es importante porque permite realizar la prueba cruzada virtual, y predecir el resultado de la prueba cruzada real antes de realizarse.

La prueba cruzada virtual se realiza al conocer la tipificación HLA de un posible donante y las especificidades de los anticuerpos anti-HLA del receptor,<sup>(11)</sup> es negativa si ambos no coinciden, o sea, si el receptor no presenta DSA. Ella permite agilizar los resultados y una mejor selección de los receptores ante un posible donante en un operativo de trasplante, sobre todo en receptores hipersensibilizados que necesitan injertos cardiacos con tiempos de isquemia cortos, lo que no permiten realizar pruebas cruzadas previas<sup>(11)</sup> o simplemente en aquellos en que el tiempo de isquemia sea corto.<sup>(10,12)</sup>

En otros países en donde la cantidad de receptores es grande y localizados en mayores extensiones de territorio, se ha adoptado la prueba cruzada virtual sobre la real para la asignación de los injertos cardiacos, lo que amplía las posibilidades territoriales de selección<sup>(2,8,11)</sup> y disminuye el tiempo y la muerte en la lista de espera de trasplante cardiaco.<sup>(11)</sup>

La prueba cruzada real tiene la limitación de que quien la realiza debe de tener muestras de sangre tanto de donante como receptor para llevarla a cabo, lo que restringe la selección del receptor a la región en donde se encuentra el donante. Sin embargo, en nuestro medio es posible mantener este método, pues los trasplantes cardiacos se realizan en un solo hospital de la capital y los receptores de todo el país son también trasladados a la capital para realizar su espera hasta el trasplante.

En nuestro país la prueba cruzada en el trasplante cardiaco inició su realización de forma retrospectiva, o sea, cuando ya se había llevado a cabo el trasplante. Esta era una práctica que se utilizaba y aún se utiliza a nivel mundial.<sup>(10)</sup> Sin embargo, debido a las condiciones antes mencionadas en Cuba esta se puede realizar previo al trasplante, ya sea de forma real o virtual. Favorece la compatibilidad donante receptor y como tal el resultado del trasplante.

El tener casi la mitad de receptores cardiacos sensibilizados con anticuerpos anti-HLA y casi todos ellos con PRA mayor o igual al 10 %, implica valorar un nuevo criterio para realizar una prueba cruzada pretrasplante.

La introducción del PRA por ELISA en los pacientes cubanos receptores de trasplante cardiaco, a pesar de sus limitaciones, ha permitido una mejor caracterización de los anticuerpos anti-HLA y con ello contribuirá a mejorar no solo la compatibilidad pretrasplante de estos pacientes con sus donantes, sino sus posibilidades de supervivencia.

### Referencias bibliográficas

1. Zamorano J, Sepúlveda L. Trasplante cardíaco. Rev Hosp Clín Univ Chile. 2007;18:299-309.
2. Kittleson MM. Changing Role of Heart Transplantation. Heart Fail Clin. 2016;12(3):411-21.
3. Romero Cabrera AJ. Insuficiencia cardiaca en el anciano. Un problema no resuelto. Medisur. 2004;2(1):72-85.
4. Soler Morejón CD, Mesquia de Pedro N. Insuficiencia cardiaca: una causa importante de muerte. Rev Cub Med. 2014;53(4):359-62.
5. Ministerio de Salud Pública. Anuario estadístico de salud 2018 [acceso 01/07/2020]. Disponible en: <http://files.sld.cu/bvscuba/files/2019/04/Anuario-Electr%C3%B3nico-Espa%C3%B1ol-2018-ed-2019-compressed.pdf>
6. Velez M, Johnson MR. Management of allosensitized cardiac transplant candidates. Transplant Rev. 2009;23:235-47.
7. Kobashigawa J MM, West L, Kerman R, George J, Rose M, Zeevi A, Reinsmoen N, Patel J, Reed EF. Report From a Consensus Conference on the Sensitized Patient Awaiting Heart Transplantation. J Heart Lung Transplant. 2009;28:213-25.
8. Al-Mohaisen MA IA, Cheung A, Kaan A, Chiu W, Kealy J, Virani SA. A Successful 4S Heart Transplantation. Can J Cardiol. 2011;27:679-81.
9. Barten MJ, Beiras-Fernandez A, Berchtold-Herz M, Boeken U, Garbade J, Hirt S, et al. The clinical impact of donorspecific antibodies in heart transplantation. Transplant Rev. 2018;32(4):207-17.
10. Conway J, Dipchand AI. Challenges with sensitized recipients in pediatric heart transplantation. Clinics. 2014;69(S1):17-21.

11. Reinsmoen NL, Mirocha J, Lai CH, Naim M, Ong G, Wang Q, et al. Optimizing transplantation of sensitized heart candidates using 4 antibody detection assays to prioritize the assignment of unacceptable antigens. *J Heart Lung Transplant*. 2016;35(2):165-72.
12. O'Connor MJ, Pahl E, Webber SA, Rossano JW. Recent advances in heart transplant immunology: The role of antibodies. *Progress in Pediatric Cardiology*. 2016;43:81-5.
13. Immucor GTI Diagnostics Inc. LIFECODES QuikScreen for in vitro diagnostic use(package insert); LIFECODES B-Screen for in vitro diagnostic use (package insert), Waukesha, WI; LIFECODES Quik-ID Class I for in vitro diagnostic use (package insert); LIFECODES Quik-ID Class II for in vitro diagnostic use (package insert). [accessed 2016/08/15]. Available from: <http://www.immucor.com/global/Products/Pages/LIFECODES-Screen-Identification.aspx>
14. Schumacher KR RD, Kamoun M, Caruthers R, Gajarski RJ. HLA desensitization in pediatric heart transplant candidates: Efficacy of rituximab and IVIg. *J Heart Lung Transplant*. 2012;31(9):1041-2.
15. Chang A, Marcell L, Ustariz CR, Bencomo A. Método cubano para determinar el porcentaje calculado de anticuerpos reactivos contra panel. *Rev Cub Hematol Inmunol Hemoter*. 2018;34(3):41-3.
16. Rodey GE NJ, Whelchel JD, Revels KW, Bray RA. Epitope specificity of HLA class I alloantibodies. I. Frequency analysis of antibodies to private versus public specificities in potential transplant recipients. *Hum Immunol*. 1994;39(4):272-80.
17. Marcell L, Ustariz CR, Costales DT, Chang A, Bencomo A Identificación de anticuerpos anti-HLA en pacientes en espera de trasplante renal. *Rev Cub Hematol Inmunol Hemoter*. 2015;31(2):138-49.

### **Conflicto de intereses**

Los autores declaran que no existen conflicto de intereses de ningún tipo.

### **Contribuciones de los autores**

- Lelyem Marcell Rodríguez: Realizó aportes importantes a la idea y diseño del estudio; la recogida y análisis e interpretación de los datos, redacción, revisión y corrección del manuscrito y la aprobación final de la versión que va publicarse.
- Luz M Morera Barrios: Realizó aportes importantes a la idea del estudio, la recogida de datos y la aprobación final de la versión que va publicarse.

- Catalino R. Ustariz García: Realizó aportes a la idea y diseño del estudio, revisión crítica de su contenido y la aprobación final de la versión que va a publicarse.
- Mahelys Ramírez Hernández: Realizó aportes importantes a la recogida de datos, realizo la revisión crítica de su contenido y la aprobación final de la versión a publicarse.
- Manuel Nafeh Abi-rezk: Realizó aportes importantes al estudio, la revisión crítica de su contenido y la aprobación final de la versión a publicarse.
- Arturo Chang Monteagudo: Realizó aportes importantes a la idea y diseño del estudio, a la recogida de datos, revisión crítica de su contenido y la aprobación final de la versión que va a publicarse.