

## **EOSIN MALEIMIDE (EMA) TEST EN EL ESTUDIO DE LA ESFEROCITOSIS HEREDITARIA**

**C. Fernández Lago, J.L. Amboage Núñez y M.J. Couselo Noya**

*Servicio de Hematología. CHU Juan Canalejo. A Coruña.*

**Introducción:** La eosin-5-maleimide (EMA), con capacidad fluorescente, se fija específicamente en la proteína de anclaje de la membrana eritrocitaria (Ankirina), dando como resultado deficiencias en la emisión de señal fluorescente en los pacientes con defectos estructurales de la membrana eritrocitaria (Esferocitosis, Eliptocitosis etc) pero no afectándose en otras circunstancias que cursan con esferocitosis pero que mantienen intacta la estructura de membrana eritrocitaria (AHAI). En el año 2000 King desarrollo una metodología, que utilizando la citometría de flujo, permite el estudio de los hematíes marcados con EMA, facilitando el estudio de los pacientes con patología de la membrana eritrocitaria con ventaja sobre otras técnicas al uso, como FO, TLG-50, Pink test, etc. Siendo su resolución tan solo equiparable a la electroforesis de membrana, que por su complejidad técnica solo está al alcance de muy pocos laboratorios. Presentamos nuestra experiencia piloto con el test de EMA en un grupo de pacientes con esferocitosis hereditaria.

**Material y métodos:** *Muestras:* Sangre en EDTA de 10 controles normales, 6 pacientes con esferocitosis y 2 pacientes con AHA. *Reactivos:* PBS, PBS-BSA, EMA: diluida a 0,3 g/mL y alícuotada en alícuotas de 200 mL. mantenida en oscuridad a – 80°C hasta el momento de su empleo. Otro *Material:* citómetro, tubos ependorf 1 mL, pipetas pasteur desechables, centrífuga ependorf. *Procedimiento:* Se mezclaron en un tubo ependorf de 1 mL 5 mL de hematíes con 25 mL de EMA (0,3 mg/mL), se incubaron 2 h a 4º en la oscuridad. Una después de incubados se removieron cada 15 minutos. Finalizada la incubación se centrifugaron a 13000 rpm durante 10 seg. Se retiro el sobrenadante y las muestras se lavaron 2 veces en PBS-BSA. Finalmente se reconstituyeron con PBS y se leyeron en citómetro midiendo la fluorescencia de la muestra (FL1).

**Resultados:** Las muestras de controles normales expresaron una fluorescencia evidente, del mismo modo que las muestras de pacientes con AHA. Al analizar las muestras de pacientes con esferocitosis encontramos que el nivel de fluorescencia resultaba muy inferior al de las muestras control, permitiendo en todos los casos diferenciar claramente los normales de los patológicos.

**Conclusiones:** Aunque nuestra experiencia es limitada, creemos que el Test de EMA, puede contribuir eficazmente al diagnóstico de las esferocitosis, en especial en casos donde otras metodologías no ofrecen un resultado fiable y siempre antes de emprender un a electroforesis de membrana, que resulta muy costoso y al alcance de muy pocos laboratorios.